

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FERNANDA MARIA DE SOUZA

**VARIABILIDADE ESPAÇO-TEMPORAL DA MACROFAUNA BÊNICA EM
BAIXIOS ENTREMARÉS SOB INFLUÊNCIA DE EFLUENTES URBANOS**

PONTAL DO PARANÁ

2012

FERNANDA MARIA DE SOUZA

VARIABILIDADE ESPAÇO-TEMPORAL DA MACROFAUNA BÊNICA EM
BAIXIOS ENTREMARÉS SOB INFLUÊNCIA DE EFLUENTES URBANOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-
Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos da
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Maurício Garcia de Camargo

Co-orientador: Dr. Paulo da Cunha Lana

PONTAL DO PARANÁ

2012

S729v Souza, Fernanda Maria de
Variabilidade espaço-temporal da macrofauna bêmica em baixos
entremarés sob influência de efluentes urbanos. / Fernanda Maria de
Souza. – Pontal do Paraná, 2012.
62 f.; 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Garcia de Camargo.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor
de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Bentos - variabilidade espaço temporal. 2. Poluição. 3. Enriquecimento
orgânico. 4. Baía de Paranaguá. 5. Baixos entremarés. I. Título. II. Mauricio Garcia
de Camargo. III. Paulo da Cunha Lana. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDD 574.92

*“Variabilidade espaço-temporal da macrofauna bêntica em baixios
entremarés sob influência de efluentes urbanos”*

POR

Fernanda Maria de Souza

Dissertação nº 91 aprovada como requisito parcial do grau de Mestre no
Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos da
Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos
professores:



Maurício Garcia de Camargo (UFPR-CEM)
Orientador e Presidente

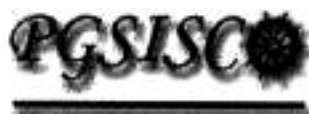


Dr. Carlos Alberto Borzone (UFPR-CEM)
Membro Examinador



Drª. Natalia Venturini Caballero (Universidad de la República, Uruguay)
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 21/03/2012.



**Curso de Pós-Graduação em Sistemas
Costeiros e Oceânicos da UFPR**

Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Av. Itália - km. 8, s/n.º - Balne. Pontal da Itaipu - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41) 3091 9644 - Fax (41) 3091 9644 - www.cem.ufpr.br/pgsisco - pgsisco@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO


Fernanda Maria de Souza

**Variabilidade espaço-temporal da macrofauna bêntica em baixios
entremarés sob influência de efluentes urbanos**

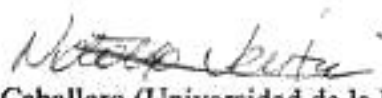
Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Dr. Maurício Garcia de Camargo (UFPR-CEM)
Orientador e Presidente



Dr. Carlos Alberto Borzone (UFPR-CEM)
Membro Examinador



Drª. Natalia Venturini Caballero (Universidad de la República, Uruguay)
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 21/03/2012.

*E eu digo que a vida é mesmo escuridão exçeto quando existe necessidade,
E toda a necessidade é cega exçeto quando existe sabedoria,
E toda a sabedoria é vã exçeto quando existe trabalho,
E todo o trabalho é vazio exçeto se houver amor.*

Khalil Gibran
- O Profeta

AGRADECIMENTOS

Ao PGSISCO pela oportunidade de realização deste projeto.

Aos meus orientadores, Maurício Camargo e Paulo Lana, pela confiança, conselhos e apoio.

A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro, sem o qual este projeto não seria viável.

Ao Laboratório de Modelagem Ecológica pela estrutura e acolhida nos últimos sete anos.

Ao Laboratório de Bentos e a Kalina pela parceria neste projeto, pelos insights e brainstorms.

Aos Laboratórios de Biogeoquímica Marinha, Geoquímica e Poluição Marinha e Sedimentologia pela disponibilidade de sua estrutura e pessoal para o processamento das amostras de nutrientes, esteróis e granulometria.

Aos companheiros de laboratório e lupa: Eli, Bryan, Mariana, Guilherme e Daia.

Ajudantes de coleta que atolaram comigo nos baixios cheios de esgoto, na chuva e no frio.

A minha família, simplesmente por tudo que sou.

RESUMO

Os organismos bênticos são amplamente utilizados na detecção de impactos antrópicos em sistemas estuarinos devido ao seu comportamento sésil e expectativa de vida longa. Para compreender a estrutura, a dinâmica e os processos ecológicos que operam sobre a fauna bêntica, é essencial identificar as escalas de variabilidade espacial e temporal nas quais as comunidades se distribuem. Para isso, modelos de amostragem hierárquica permitem diferenciar as mudanças produzidas pelas atividades antrópicas e as fontes de variabilidade naturais do sistema. Este trabalho traz dois capítulos que aplicam tais modelos em diferentes graus de complexidade. A partir da identificação das escalas espaciais (CAPÍTULO 1), foram investigadas as escalas temporais e a interação espaço-tempo (CAPÍTULO 2) na variabilidade da macrofauna e sua relação com as características físico-químicas dos sedimentos. Os resultados evidenciaram a influência da contaminação por efluentes urbanos na estruturação das comunidades, com predomínio de espécies indicadoras na área Contaminada, embora também tenha sido observada variabilidade significativa na escala de Baixios, geradas por diferenças estruturais e nas características físico químicas como grau de *input* orgânico. Houve diferenças entre os Períodos para abundância e número de espécies, com menores valores durante o Verão. Isto pode ser reflexo da maior dessecação e incidência de tempestades sobre as áreas entremarés no Período. No entanto, a variabilidade temporal foi maior em pequena escala (Quinzenas), e na escala do Resíduo (10^0 m).

ABSTRACT

Benthic organisms are widely used in detection of anthropic impacts in estuarine systems due to their sessile behavior and long life cycle. To understand the structure, the dynamics and the ecological processes that operate on benthic fauna, it is essential to identify the spatial and temporal scales of variability in which communities are distributed. For that, hierarchical sampling models have been used to distinguish changes produced by human activities from natural sources of variability of the system. This work presents two chapters that apply linear models in different degrees of complexity. From the identification of spatial scales (Chapter 1), we investigated the temporal scales and space-time interaction (Chapter 2) on the variability of the macrofauna and its relationship with the physicochemical characteristics of the sediments. The results evidenced the influence of contamination by urban sewage in community structure, with the predominance of indicator species in the Contaminated site, although a significant variability was also observed in the Tidal Flat scale, generated by structural differences and physical-chemical characteristics, such as the degree of organic input. The Periods has shown differences in abundance and number of species, with lower values during the Rainy Period, which may reflect a higher desiccation level and storm incidence on tidal flats during the summer months. However, the temporal variability was higher in small scales (Fortnights), and in the residual scale (10^0 m).

Palavras chave: bentos; poluição; modelos mistos de ANOVA; enriquecimento orgânico; Baía de Paranaguá; baixios entremarés; variabilidade espaço-temporal.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
CAPÍTULO 1.....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 MATERIAIS E MÉTODOS	17
2.1 <i>Área de Estudo</i>	17
2.2 <i>Delineamento Amostral</i>	18
2.3 <i>Análise de Dados</i>	20
3 RESULTADOS	20
4 DISCUSSÃO.....	27
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
CAPÍTULO 2.....	33
Resumo.....	34
Abstract.....	34
1 INTRODUÇÃO.....	36
2 MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1 <i>Área de Estudo</i>	37
2.2 <i>Delineamento Amostral</i>	38
2.3 <i>Análise de Dados</i>	40
3 RESULTADOS	40
3.1 <i>Esteróis Fecais</i>	41
3.2 <i>Dados Ambientais</i>	43
3.3 <i>Dados Biológicos</i>	47
4 DISCUSSÃO.....	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS	64
Anexo 1.....	64
Anexo 2.....	65
Anexo 3.....	66

1 INTRODUÇÃO GERAL

Devido ao seu comportamento sésil e expectativa de vida relativamente longa, os organismos bênticos são amplamente utilizados como indicadores da qualidade ecológica dos seus habitats e na detecção de impactos antrópicos nos ecossistemas estuarinos, uma vez que a estrutura das comunidades bênticas depende diretamente das condições ambientais (ROSENBERG, 2001; SHIN *et al.*, 2004; COOKSEY & HYLAND, 2007).

Em áreas poluídas, a perda da diversidade e a dominância de espécies tolerantes podem modificar processos ecológicos e reduzir a complexidade da cadeia trófica a um nível irreversível (LERBERG *et al.*, 2000). Isso acontece porque as respostas às perturbações dependem da sensibilidade e dos níveis de tolerância específicos (DAUER, 1993; LANCELLOTTI & STOTZ, 2004). Com isso, a compreensão da estrutura, distribuição espacial e temporal da fauna se torna uma ferramenta importante na compreensão dos processos ecológicos, suas alterações e causas.

A compreensão plena da estrutura e dinâmica das comunidades bênticas requer o conhecimento e investigação da interação entre a variabilidade temporal e espacial em diferentes escalas (LEVIN, 1992; NORÉN & LINDEGARTH, 2005). Para isso é necessário realizar experimentos replicados não apenas em grandes escalas, mas também em múltiplas escalas aninhadas dentro destas e replicadas adequadamente (CHAPMAN *et al.*, 2010). Este conhecimento é essencial para o desenvolvimento de hipóteses sobre os processos ecológicos vigentes, para a avaliação de impactos ambientais e desenvolvimento de modelos de previsão adequados, através da diferenciação entre as mudanças produzidas pelas atividades humanas e as fontes de variabilidade naturais do sistema (LEVIN 1992, CONSTABLE 1999, THRUSH *et al.* 1999, UNDERWOOD *et al.* 2000).

Este estudo tem como objetivos avaliar a influência dos efluentes urbanos na estruturação das associações macrobênticas locais através da identificação das escalas de variabilidade da macrofauna em baixios entremarés não vegetados submetidos a diferentes níveis de contaminação por efluentes. O primeiro capítulo tem o objetivo de identificar as escalas espaciais de variabilidade em baixios entremarés submetidos a diferentes níveis de contaminação por efluentes urbanos. As escalas analisadas foram Condições (Contaminada e Não-Contaminada – 10^3 m), quatro Baixios aninhados em Condições (10^2 m) e três Pontos aninhados em Baixios (10^1 m) com três réplicas. O

segundo capítulo tenta integrar múltiplas escalas espaciais e temporais. Neste, as escalas espaciais analisadas foram duas Condições (10^3 m); dois Baixios (10^2 m) e quatro Pontos (10^1 m), com três réplicas. As escalas temporais foram Períodos (Verão e Inverno) e três Quinzenas aninhadas em Período.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAPMAN, M.; TOLHURST, J.; MURPHY, R.; UNDERWOOD, A. J. Complex and inconsistent patterns of variation in benthos, microalgae and sediment over multiple spatial scales. **Marine Ecology Progress Series**, v.398, p.33-47, 2010.

CONSTABLE, A. J. Ecology of benthic macro-invertebrates in soft-sediment environments: a review of progress towards quantitative models and predictions. **Australian Journal of Ecology**, v.24, p.452-476, 1999.

COOKSEY, C.; HYLAND, J. Sediment quality of the lower St. Johns River, Florida: an integrative assessment of benthic fauna, sediment associated stressors, and general habitat characteristics. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p.9-21, 2007.

DAUER, D. M. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. **Marine Pollution Bulletin**, v.26, p.249-257, 1993.

LANCELLOTTI, D. A.; STOTZ, W. B. Effects of shoreline discharge of iron mine tailings on a marine soft-bottom community in northern Chile. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p.303-312, 2004.

LERBERG, S. B.; HOLLAND, F.; SANGER, D. M. Responses of tidal creek macrobenthic communities to the effects of watershed development. **Estuaries**, v.23, p.838-853, 2000.

LEVIN, S. A. The problem of pattern and scale in ecology. **Ecology**, v.73, p.1943-1967, 1992.

NORÉN, K.; LINDEGARTH, M. Spatial, temporal and interactive variability of infauna in Swedish coastal sediments. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.317, p.53-68, 2005.

ROSENBERG, R. Marine benthic faunal successional stages and related sedimentary activity. **Scientia Marina**, v.65, p.107-119, 2001.

- 61 SHIN, P. K. S.; HUANG, Z. G.; WU, R. S. S. An updated baseline of subtropical
62 macrobenthic communities in Hong Kong. **Marine Pollution Bulletin**, v.49, p.119–
63 141, 2004.
- 64 THRUSH, S. F.; LAWRIE, S. M.; HEWITT, J. E.; CUMMINGS, V. J. The problem of
65 scale: uncertainties and implications for soft-bottom marine communities and the
66 assessment of human impacts. In: GRAY, J. S.; AMBROSE, W. G.; SZANIAWSKA,
67 A. (eds) **Biogeochemical cycling and sediment ecology**. Kluwer Academic Publishers,
68 Dordrecht, p.195–210. 1999.
- 69 UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G.; CONNELL, S. D. Observations in ecology:
70 you cannot make progress on processes without understanding the patterns. **Journal of**
71 **Experimental Marine Biology and Ecology**, v.250, p.97–115, 2000.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE EFLUENTES URBANOS SOBRE A MACROFAUNA BÊNICA: UMA ABORDAGEM EM MÚLTIPLAS ESCALAS ESPACIAIS

EFFECTS OF SEWAGE DISCHARGE ON THE BENTHIC MACROFAUNA: A SPACIAL MULTI-SCALE APPROACH

Resumo

O objetivo deste estudo foi identificar as escalas espaciais de maior variabilidade da macrofauna em baixios entremarés submetidos a diferentes níveis de contaminação por efluentes urbanos. Foram amostradas duas áreas (Contaminada e Não Contaminada) no Complexo Estuarino de Paranaguá em agosto de 2011. As escalas investigadas foram: Condição (Contaminado e Não Contaminado - 10^3 m); Baixio (10^2 m); Ponto (10^1 m) e Réplica (10^0 m). Os dados foram analisados por PERMANOVA, nMDS, PCA e ANOVA hierárquica. Embora os táxons numericamente dominantes apresentem maior variabilidade na escala de 10^2 m, a variabilidade na escala de 10^3 m também foi significativa, indicando diferenças relacionadas ao *input* de efluentes urbanos. Tubificinae sp1, *Laeonereis culveri* e Capitellidae, organismos reconhecidamente tolerantes à contaminação orgânica, apresentaram maiores abundâncias na área contaminada, enquanto *Heleobia australis* foi mais representativa na área não contaminada. A ordenação dos pontos pelo PCA apresentou correlação positiva significativa dos baixios contaminados com os vetores correspondentes aos descritores orgânicos (carbono orgânico, nitrogênio e fósforo total), indicando enriquecimento orgânico na área contaminada. Nenhuma das análises indicou como principais fontes de variação da macrofauna as menores escalas espaciais, de centímetros a dezenas de metros, geralmente atribuídas a processos em nível de indivíduos, como competição e bioturbação. Os efeitos da descarga de efluentes urbanos parecem determinar a distribuição das associações macrobênticas na escala espacial mais ampla (10^3 m), enquanto características físicas específicas de cada baixio são mais atuantes na determinação da distribuição na escala de 10^2 m.

Palavras chave: bentos; poluição; ANOVA hierárquica; escalas espaciais; enriquecimento orgânico.

Abstract

The objective of this study was to identify the spatial scales that accounted for most of the variability of macrofauna in tidal flats subjected to different levels of contamination by urban effluents. Two areas were sampled (Contaminated and Non-contaminated) in the Paranaguá Estuarine Complex in August 2011. The analyzed scales were: Condition (Contaminated and Non-contaminated – 10^3 m); Tidal flat (10^2 m); Plot (10^1 m) and Replicate (10^0 m). The data were analyzed by PERMANOVA, nMDS, PCA and nested ANOVA. Although the numerically dominant taxa has shown greater variability at the

scale of 10^2 m, the variability in the scale of 10^3 m was also significant, which indicates differences related to the input of urban discharges. Tubificinae sp1, *Laeonereis culveri* and Capitellidae, well known as pollution tolerant organisms, presented higher abundances in the Contaminated site, while *Heleobia australis* was more representative of the Non-contaminated site. The PCA ordination showed a positive significant correlation between the contaminated tidal flats and the vectors corresponding to organic descriptors (organic carbon, nitrogen and total phosphorus), which indicated the organic enrichment of the contaminated site. None of the analyzes indicated the smaller spatial scales as main sources of macrofaunal variation, from centimeters to tens of meters, usually attributed to processes at individual levels, such as competition and bioturbation. The effects of urban discharges seem to determine the structure of macrofaunal assemblages at larger spatial scales (10^3 m), while physical characteristics specific to each tidal flat determine the patterns in the scale of 10^2 m.

1 INTRODUÇÃO

O enriquecimento orgânico é considerado um dos distúrbios antrópicos mais comuns e uma das principais causas de alterações na fauna bêntica em ambientes costeiros e estuarinos (PEARSON & ROSENBERG, 1978; FERREIRA *et al.*, 2011). O conhecimento da distribuição espacial da fauna bêntica possibilita a compreensão das interações das espécies entre si e com o ambiente, uma vez que a fauna apresenta respostas às mudanças ambientais, tanto na qualidade da água como do sedimento, de acordo com a sensibilidade e níveis de tolerância específicos (DAUER, 1993; LANCELLOTTI & STOTZ, 2004).

O clássico paradigma de Pearson e Rosenberg (1978) prevê respostas positivas das comunidades bênticas ao enriquecimento orgânico moderado uma vez que estas seriam moduladas pela disponibilidade de alimento. Contudo, descargas excessivas de matéria orgânica têm como consequências a redução de espécies sensíveis e de vida longa, enquanto espécies mais tolerantes e com ciclos de vida curtos seriam favorecidas. Em áreas poluídas, a perda da diversidade e conseqüente dominância de poucas espécies tolerantes podem modificar os processos ecológicos e reduzir a complexidade da teia trófica a um nível irreversível (LERBERG *et al.*, 2000).

Além dos distúrbios ambientais, interações biológicas como a predação, competição e bioturbação podem exercer um papel importante na manutenção da heterogeneidade espacial dos organismos bentônicos (SNELGROVE & BUTMAN, 1994; ANDERSON, 2008). A compreensão da estrutura e dinâmica das comunidades bênticas requer o conhecimento e investigação da variabilidade espacial em diferentes escalas, que podem variar de centímetros a dezenas de quilômetros (LEVIN, 1992; NORÉN & LINDEGARTH, 2005).

O conhecimento das escalas em que as comunidades variam pode ajudar a identificar os processos ecológicos que determinam os padrões de distribuição observados (MORRISEY *et al.*, 1992; UNDERWOOD & CHAPMAN, 1996). As escalas em que as espécies e comunidades variam podem ser identificadas por experimentos não-manipulativos, que devem ser replicados em múltiplas escalas aninhadas (CHAPMAN *et al.*, 2010). Amostragens replicadas em diferentes escalas constituem uma ferramenta eficiente para compreender as variações na estrutura da comunidade e as fontes naturais de variação que podem mascarar uma resposta à perturbação antrópica (UNDERWOOD, 1997).

Este estudo tem como objetivo identificar as escalas espaciais de maior variabilidade da macrofauna em baixios entremarés não vegetados, submetidos a dois níveis diferentes de contaminação por efluentes urbanos, assim como avaliar a influência dos efluentes na estruturação das associações locais. A hipótese testada foi: se a contaminação por efluentes altera a estrutura das comunidades, então a variabilidade espacial será maior entre ambientes contaminados e não contaminados (na escala de 10^3 m) do que a variabilidade interna destes ambientes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

O estudo foi conduzido em baixios entremarés do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), situado na costa sul do Brasil ($25^{\circ}03'S$, $48^{\circ}25'W$). Sua área abrange 612 km^2 , sendo um dos mais importantes estuários da costa sul do Brasil em termos de atividades portuárias e turísticas. No setor polihalino do CEP, próximo à desembocadura, situa-se o sub-estuário da Cotinga, com cerca de 20 km de extensão (Fig. 1). Aproximadamente 34% da área do sub-estuário corresponde a planícies de maré (NOERNBERG *et al.*, 2006), formadas por diversos sistemas de relevante importância ecológica, como manguezais, marismas e bancos não vegetados, de dinâmica fortemente influenciada por correntes de maré (BIGARELLA *et al.* 1978).

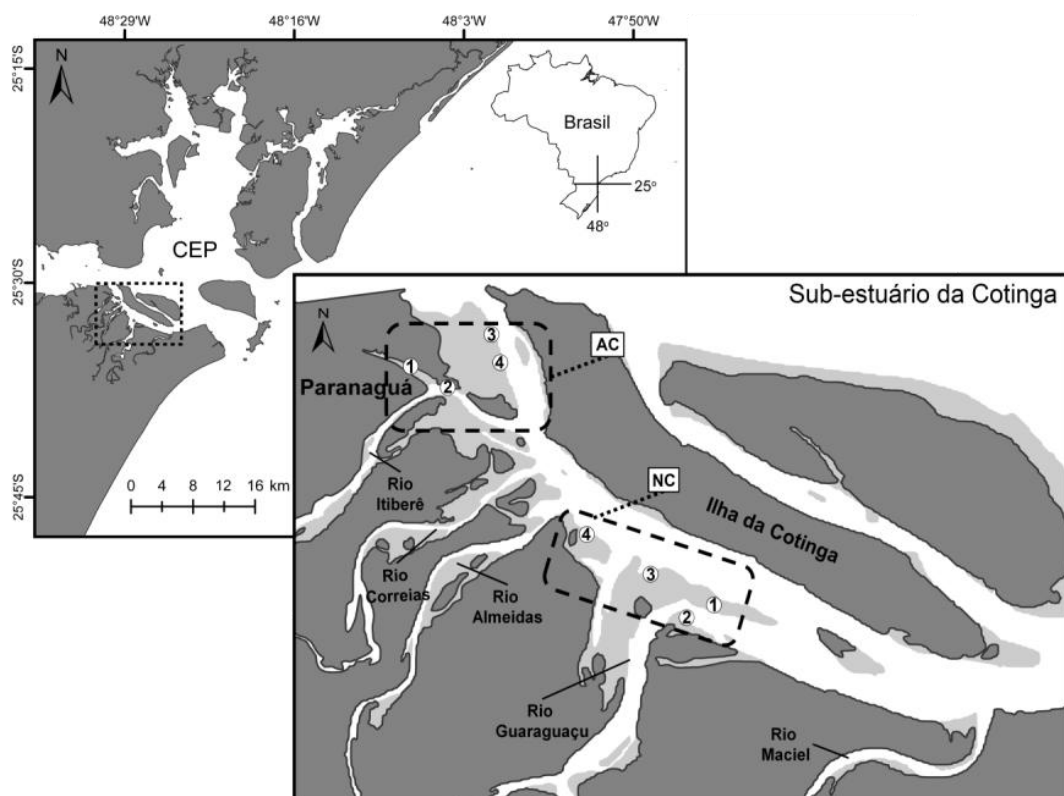


Figura 1: Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e sub-estúrio da Cotinga. Em destaque as áreas de amostragem Contaminada (AC) e Não-Contaminada (NC), distantes na escala de 10^3 m. Em cada área foram amostrados quatro baixios (distantes na escala de 10^2 m), com três pontos em cada baio (10^1 m) e três réplicas (10^0 m) para cada ponto.

O sub-estúrio da Cotinga recebe uma grande quantidade de esgotos produzidos na cidade de Paranaguá. Cerca de 50% da população da cidade é contemplada com tratamento de esgoto, sendo o restante liberado *in natura* no ambiente (CAB-Águas de Paranaguá, 2010). A região de Paranaguá é caracterizada por elevadas concentrações de esteróis fecais e alta atividade bacteriana, associadas ao despejo de esgotos domésticos nos corpos d'água que margeiam a cidade (KOLM *et al.*, 2002; MARTINS *et al.*, 2010). Os efluentes provenientes de Paranaguá se diluem na coluna d'água, formando um gradiente ao longo do sub-estúrio da Cotinga (KNOPPERS *et al.*, 1987; LANA *et al.*, 2000).

2.2 Delineamento Amostral

Para identificar as escalas de variabilidade da macrofauna, foi aplicado um modelo linear com três fatores: Condição - fixo com dois níveis (Contaminado e Não-Contaminado - 10^3 m); Baio - aleatório com quatro níveis (10^2 m), aninhado em Condição; Ponto - aleatório com três níveis (10^1 m), aninhado em Baio e três réplicas para cada Ponto (10^0 m) (Fig. 2). Os pontos foram posicionados paralelamente à linha

d'água, evitando a influência de possíveis padrões de zonação da macrofauna em função da declividade do baixio.

Modelo linear:

$$X = \mu + \text{Condição}_i + \text{Baixio}(\text{Condição})_{j(i)} + \text{Ponto}(\text{Baixio}(\text{Condição}))_{k(i(j))} + e_{l(ijk)}.$$

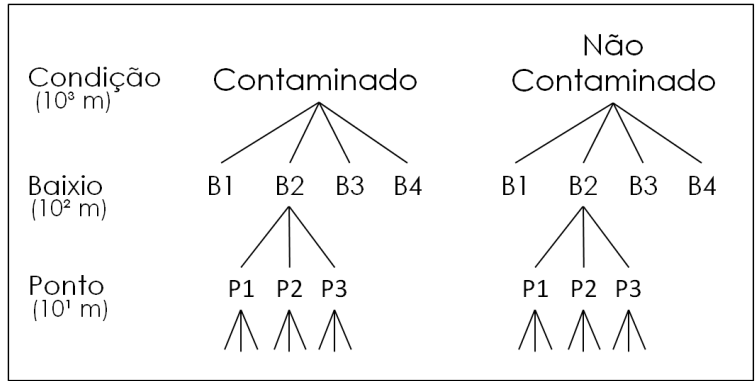


Figura 2: Diagrama do delineamento amostral adotado e as escalas de variabilidade espacial correspondentes aos fatores do modelo linear: Condição (Contaminado e Não Contaminado); Baixio (B1, B2, B3 e B4); Ponto (P1, P2 e P3) e três réplicas para cada ponto.

A coleta foi realizada durante a maré baixa de sizígia, com amostrador de 10 cm de diâmetro interno e 15 cm de altura. As amostras de fauna foram fixadas em solução de formol 4%, lavadas em peneira com malha de 0,5 mm e preservadas em álcool a 70% com adição do corante Rosa de Bengala. Os organismos foram triados e identificados até a menor resolução taxonômica possível. Os valores de biomassa foram estimados por peso seco após secagem em estufa a 60°C por 48hs e pesagem em balança digital de 0,001g de precisão. As conchas de moluscos foram previamente removidas.

Paralelamente, em cada ponto foram tomadas amostras para caracterização textural do sedimento, determinação dos teores de fósforo total (PT), nitrogênio total (NT), carbono orgânico total (COT) e carbonato de cálcio (CaCO₃).

As amostras de sedimento foram processadas segundo Suguio (1973) e os parâmetros granulométricos foram obtidos em ambiente R com auxílio do pacote *rysgran* (GILBERT *et al.*, 2011). O teor de CaCO₃ foi obtido pela diferença entre o peso inicial e final de cada amostra após ataque químico com solução de ácido clorídrico a 1 mol.L⁻¹. As concentrações de NT e PT foram determinadas pelo método de Grasshoff *et al.* (1983) e as concentrações de COT pelo método de oxidação descrito por Strickland & Parsons (1972).

2.3 Análise de Dados

As escalas de variabilidade espacial foram avaliadas através de um modelo misto de ANOVA hierárquica (*fully nested*). Ao modelo linear foi aplicada uma análise de variância multivariada permutacional - PERMANOVA (ANDERSON, 2001) para identificar a variação nos padrões espaciais da comunidade, complementada por uma ordenação por nMDS (Escalonamento Multidimensional não Métrico). As análises multivariadas foram baseadas em uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis (BRAY & CURTIS, 1957), gerada a partir de dados não transformados. Adicionalmente, foram calculados os componentes de variação para estimar a variabilidade percentual de cada escala e do resíduo através da estimativa por máxima verossimilhança restrita (PINHEIRO & BATES, 2000).

Os dados ambientais foram analisados por um modelo simplificado de ANOVA com dois fatores: Condição e Baixio. Para descrever as tendências de variação espacial, foi aplicada uma análise de ordenamento linear em componentes principais (PCA) sobre a matriz de dados abióticos padronizada.

As ANOVAS foram realizadas sobre a densidade total (N), biomassa total, riqueza de espécies (S), diversidade de Shannon-Wiener (H'), densidade e biomassa relativa das cinco espécies numericamente dominantes, que juntas somaram mais de 80% da dominância total (Tabela 4).

As análises foram realizadas em ambiente R (R Development Core Team, 2011), com auxílio dos pacotes GAD (SANDRINI-NETO & CAMARGO, 2010), lme4 (BATES *et al.*, 2011) e vegan (OKSANEN *et al.*, 2011). A análise PERMANOVA foi realizada através do programa PERMANOVA, escrito em FORTRAN (ANDERSON, 2001).

3 RESULTADOS

A influência do *input* de efluente orgânico foi evidenciada no nMDS com a formação dos grupos formados por amostras das áreas Contaminadas e Não-Contaminadas, indicando que as associações macrofaunais variam de acordo com o nível de enriquecimento (Fig. 2). O diagrama sugere ainda uma maior similaridade entre os baixios 1 e 2, dentro de cada Condição. Este resultado é suportado pelos resultados da PERMANOVA, embora variações significativas tenham sido detectadas em todas as escalas analisadas (Tab. 1).

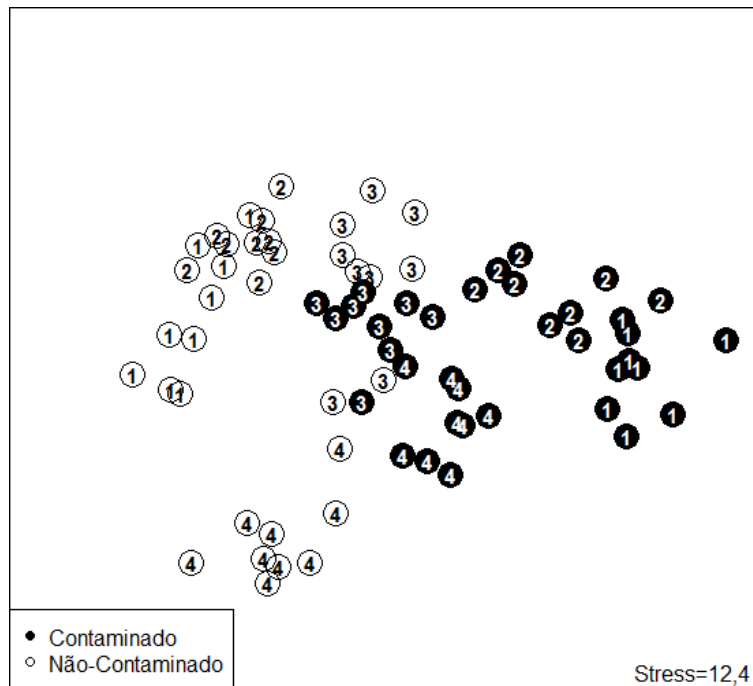


Figura 2: Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) aplicado sobre a matriz de abundância de espécies, mostrando as diferenças nas associações macrofaunais entre Condições (Contaminado e Não-Contaminado) e Baixios (1 a 4).

Tabela 1: Resultados da PERMANOVA calculada a partir da matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis para as associações macrofaunais nas diferentes escalas investigadas. Valores de *p* indicam a significância estatística obtida pelo teste de permutação de Monte Carlo.

	MS	<i>Pseudo-F</i>	<i>p</i>
Condição	41960	2,65	0,037
Baixio (Cond)	15830	13,33	0,001
Ponto (Baixio(Cond))	1187	1,64	0,003
Resíduo	721		

As características granulométricas foram semelhantes em todos os baixios, com diâmetro médio dos grãos composto por areia muito fina e grau de seleção alternado entre moderadamente selecionado e bem selecionado.

Para fósforo total (PT), houve diferenças significativas entre Condições e Baixios, com 60% da variação entre Condições. Nitrogênio total (NT) apresentou resultados semelhantes, com 56% da variação entre Condições e diferenças significativas para as Condições e Baixios. Para carbono orgânico total (COT), as diferenças foram significativas para as duas escalas e variação foi semelhante entre condições e baixios, com 44,5 e 43,9%, respectivamente. Carbonato de cálcio (CaCO₃)

apresentou diferenças significativas apenas entre condições e porcentagem de finos (Finos) foi significativamente diferente entre baixios. As maiores variações ocorreram na escala do resíduo, 67,5% para CaCO_3 e 91,6% para Finos.

Tabela 2: Análise de variância e componentes de variação para fósforo total (PT), nitrogênio total (NT), carbono orgânico total (COT), matéria orgânica (MO), carbonato de cálcio (CaCO_3) e porcentagem de sedimentos finos (Finos) para as escalas de variabilidade espacial analisadas.

PT						NT			
Fonte	GL	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
C	1	150275126	8,96	0,024	60,3	5086683	7,49	0,034	56,2
B(C)	6	16767287	6,44	0,001	25,6	679061	7,48	0,001	30
Res	16	2603139			14,1	90783			13,9
COT						CaCO3			
Fonte	GL	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
C	1	1,26	4,99	0,067	44,5	6,74	8,48	0,027	32,5
B(C)	6	0,25	22,53	0,000	43,9	0,80	0,74	0,623	0,0
Res	16	0,01			11,6	1,07			67,5
Finos									
Fonte	GL	MQ	F	P	% V				
C	1	0,05	1,22	0,312	0,6				
B(C)	6	0,05	3,13	0,032	7,8				
Res	16	0,01			91,6				

De modo geral, a ordenação dos pontos pela PCA (Fig. 3) ilustrou um gradiente espacial ao longo do eixo 1, com amostras da área Contaminada apresentando correlação positiva com os indicadores químicos de enriquecimento orgânico e as amostras Não-Contaminadas, correlações negativas. Os dois primeiros eixos do PCA explicaram 75,9 % da variação dos dados. O eixo 1, responsável por 54% da variação, foi formado principalmente pelos vetores COT, PT e CaCO_3 . O eixo 2 foi responsável por 21,9% da variação, formado principalmente pelos vetores NT e Finos.

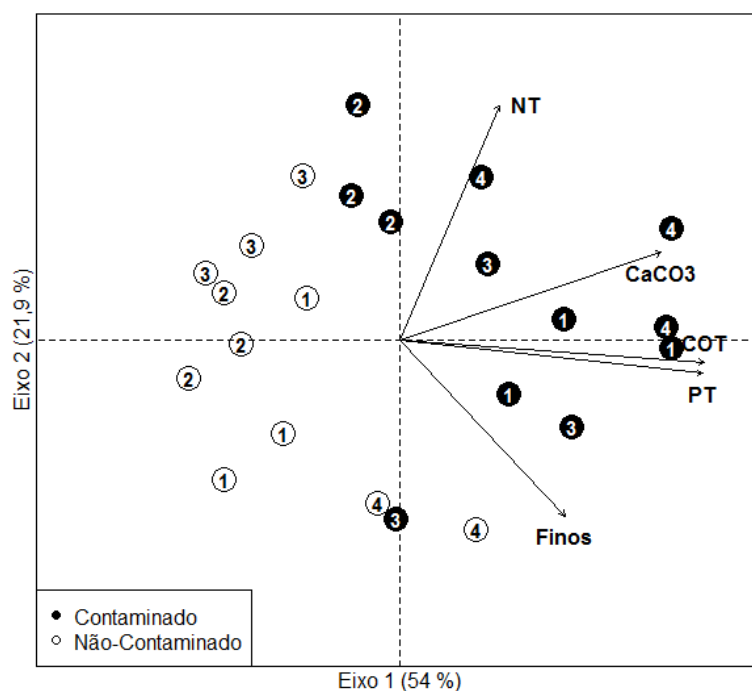


Figura 3: Ordenação por PCA dos pontos amostrais Contaminados e Não-Contaminados e Baixios (1 a 4) em cada área para os dois primeiros eixos. Vetores: NT: nitrogênio total; CaCO₃: carbonato de cálcio; COT: carbono orgânico total; PT: fósforo total; Finos: teor de sedimentos finos.

177 Ao total foram contabilizados 15.713 indivíduos pertencentes a 63 táxons. A
178 densidade total foi maior na área Contaminada, com 59% da variação entre Condições
179 (10³ m) e 17% entre Baixios (10² m). As diferenças significativas ocorreram entre
180 Pontos e Baixios e a variação se distribuiu entre as escalas, com 31,5% entre Condições
181 22% entre Baixios e 33% entre Pontos. Em linhas gerais, o número de espécies e a
182 diversidade de Shannon-Wiener foram similares, com valores maiores nos Baixios B3 e
183 B4 para a área Contaminada, e no Baixio B4 para a área Não-Contaminada. A
184 variabilidade espacial foi maior na escala de Baixios (10² m), concentrando 92% da
185 variação para número de espécies e 53% para diversidade de Shannon-Wiener (Fig. 4,
186 Tab. 3). Os testes também mostraram dois comportamentos distintos dentro da área
187 Contaminada, com maior densidade e menor número de espécies e diversidade para os
188 Baixios B1 e B2 em relação a B3 e B4.

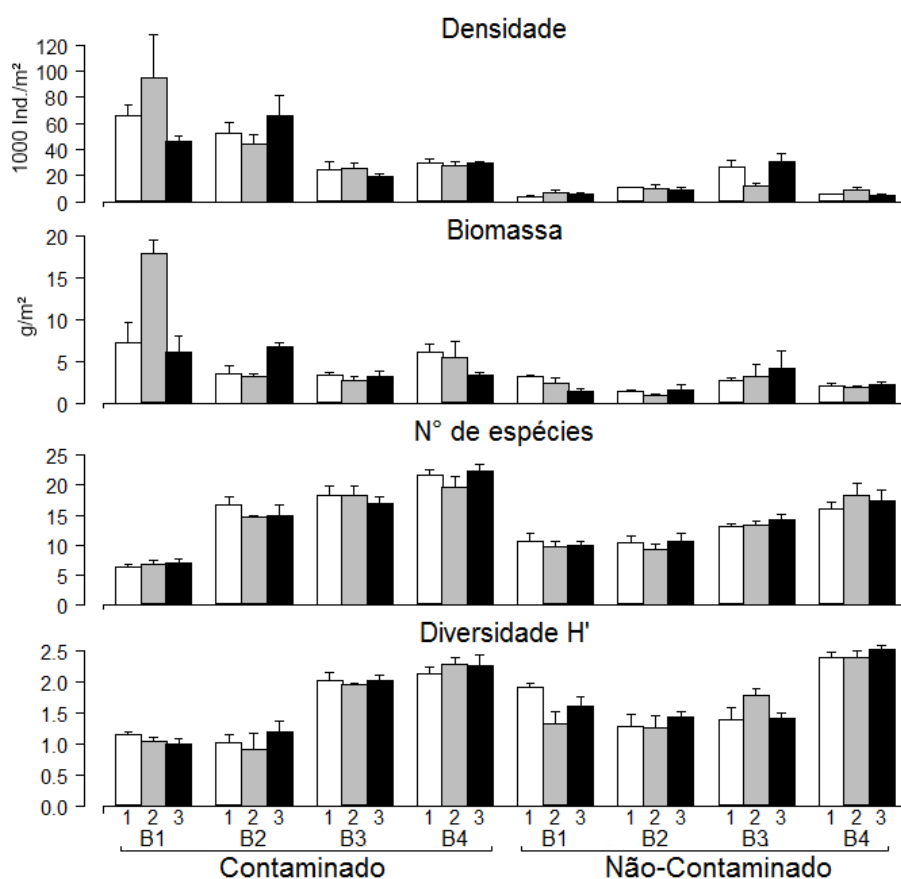


Figura 4: Variabilidade espacial das médias (\pm EP, $n=3$) de densidade total, biomassa (1000 ind/m^2), riqueza de espécies e diversidade de Shannon-Wiener (H') da macrofauna bêntica associada às três escalas espaciais investigadas: Pontos (1 a 3); Baixios (B1 a B4); Condição (Contaminado e Não-Contaminado).

Tabela 3: Sumário da ANOVA e Componentes de Variação (%) associados às três escalas espaciais investigadas para a densidade total, biomassa, número de espécies e diversidade H' .

	Densidade				Biomassa			
	MS	F	P	CV	MS	F	p	CV
Condição	35,37	13,6	0,010	59,70	220,3	4,5	0,079	31,51
Baixio (Cond.)	2,61	13,4	0,000	17,57	49,4	2,7	0,055	22,77
Ponto (Baixio(Cond))	0,20	2,0	0,036	2,09	18,5	5,5	0,000	33,50
Resíduo	0,10			20,64	3,4			12,22
	N° Espécies				Diversidade H'			
	MS	F	P	CV	MS	F	p	CV
Condição	117,6	0,5	0,498	0,00	0,36	0,1	0,734	0,00
Baixio (Cond.)	226,4	94,8	0,000	92,23	2,81	41,2	0,000	53,02
Ponto (Baixio(Cond))	2,4	0,6	0,892	0,00	0,07	1,3	0,245	1,01
Resíduo	4,2			7,77	0,05			45,97

189 Os táxons numericamente dominantes foram o oligoqueta *Tubificinae* sp1,
190 seguido pelo gastrópode *Heleobia australis* e os poliquetas *Laeonereis culveri*,

Capitellidae e *Sigambra* sp., que juntos somaram mais de 80% da densidade total de indivíduos (Tab. 4).

Tabela 4: Dominância e dominância acumulada dos principais táxons.

	Dominância (%)	D. Acumulada (%)
Tubificinae sp1	39,6	39,6
<i>Heleobia australis</i>	15,6	55,2
<i>Laeonereis culveri</i>	14,2	69,4
Capitellidae	9,6	79,0
<i>Sigambra</i> sp.	4,6	83,6

Os organismos tipicamente tolerantes Tubificinae sp1, *L. culveri* e Capitellidae tiveram maior densidade e biomassa na área Contaminada, principalmente nos Baixios B1 e B2, com maior variabilidade oscilando entre a escala dos Baixios e das Condições (Fig. 5, Tab. 5). Para Capitellidae, a densidade e biomassa estiveram concentradas nos Pontos 1 e 2 do Baixio contaminado B1. *Sigambra* sp. também teve maior densidade e biomassa na área Contaminada, com maior ocorrência nos Baixios B3 e B4 e maior variação entre Baixios (83,7%) e réplicas (16,2%). *H. australis* variou nas escalas de Baixios (64%) e réplicas (28%).

Os padrões de distribuição descritos para estas espécies também indicam uma elevada heterogeneidade entre os Baixios da área Contaminada, onde os Baixios B1 e B2 são mais semelhantes entre si e distintos de B3 e B4. Os quatro Baixios da área Não-Contaminada, por sua vez, foram mais homogêneos para todos os parâmetros investigados.

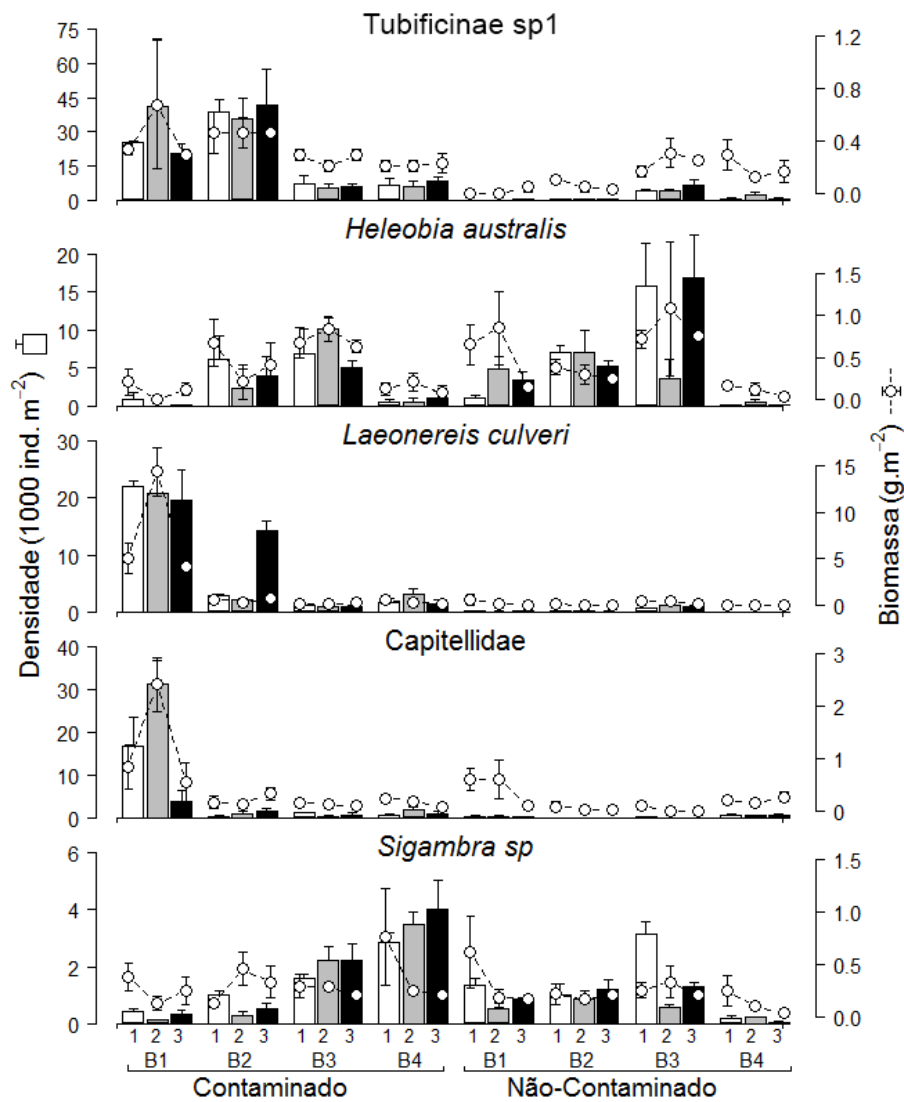


Figura 5: Variabilidade espacial das médias (\pm EP, $n=3$) de densidade e biomassa de *Tubificinae* sp1, *Heleobia australis*, *Laeonereis culveri*, *Capitellidae* e *Sigambra* sp. associadas às três escalas espaciais investigadas: Ponto (1 a 3); Baixio (B1 a B4); Condição (Contaminado e Não-Contaminado).

Tabela 5: Sumário da ANOVA e Componentes de Variação (%) associados às três escalas espaciais investigadas para a densidade das espécies numericamente dominantes.

	Tubificinae sp1				<i>H. australis</i>			
	MS	F	p	CV	MS	F	p	CV
Condição	213,2	8,7	0,026	57,0	86	1,4	0,275	8
Baixio (Cond.)	24,5	10,9	0,000	26,9	60	9,9	0,000	64
Ponto (Baixio(Cond))	2,3	1,5	0,156	2,6	6	0,9	0,565	0
Resíduo	1,5			13,5	7			28
	<i>L. culveri</i>				Capitellidae			
	MS	F	p	CV	MS	F	p	CV
Condição	463,2	10,9	0,017	66,4	207	6,2	0,048	45
Baixio (Cond.)	42,7	22,2	0,000	25,7	34	5,2	0,004	28
Ponto (Baixio(Cond))	1,9	1,0	0,475	0,0	6	1,4	0,184	6
Resíduo	1,9			7,9	5			20
	<i>Sigambra</i> sp.							
	MS	F	p	CV				
Condição	7699071	0,7	0,440	0,0				
Baixio (Cond.)	11276402	11,6	0,000	83,7				
Ponto (Baixio(Cond))	973624	2,9	0,002	16,2				
Resíduo	340046			0,0				

4 DISCUSSÃO

Um estuário é naturalmente caracterizado por gradientes ambientais extremos, por sua natureza transitória entre um sistema marinho e de água doce que é constantemente submetido ao efeito da salinidade, hidrodinamismo e marés (DAUVIN, 2007). Apesar da influência de fatores intrínsecos, a abordagem hierárquica revelou satisfatoriamente a atividade antropogênica como uma fonte de variabilidade adicional ao sistema. O presente trabalho mostrou que as maiores variações espaciais foram observadas na escala de Baixios (10^2 m), embora as associações macrofaunais também tenham apresentado variações entre Condição (10^3 m) em relação à densidade total dos organismos, o que evidencia o papel estruturador dos efluentes urbanos em escalas espaciais mais amplas.

O nMDS demonstrou que as associações presentes na área Contaminada são estruturalmente diferentes das encontradas na área Não-Contaminada, enquanto na PCA observa-se que os pontos Contaminados estão correlacionadas com o enriquecimento orgânico por fósforo, nitrogênio e carbono orgânico na saída dos efluentes. Martins *et al.* (2010) relataram valores elevados de esteróis fecais para o sublitoral próximo a área Contaminada deste estudo e valores próximos de zero na região da área Não-Contaminada, evidenciando a associação entre o enriquecimento orgânico observado na

PCA e as descargas antropogênicas. Contudo, os valores médios de COT e NT não ultrapassaram valores alerta reconhecidos pelo governo brasileiro (CONAMA 344/04 - Conselho Nacional do Meio Ambiente), de 10% para COT e 4,8 mg/g para NT, apesar de atingirem picos relativamente elevados na área Contaminada. Neste caso, o valor alerta indica o limite para possíveis prejuízos ao ambiente. Alguns valores médios de PT de fato ultrapassaram o valor alerta de 2 mg/g na área Não-Contaminada, o que poderia indicar que parte do enriquecimento orgânico é de origem natural, uma vez que a área Não-Contaminada não recebe descargas diretas de efluentes urbanos. Os efluentes urbanos são facilmente dispersos pela ação das correntes e marés locais, e a extensão da área impactada limita-se à desembocadura do Rio Itiberê e áreas próximas à cidade e porto de Paranaguá, onde se localizam os Baixios da área Contaminada (MARTINS *et al.*, 2010).

A considerável variabilidade encontrada na escala de 10² m (Baixios) para a densidade total, biomassa, riqueza e diversidade de Shannon-Wiener indica a influência de processos físicos intrínsecos a cada baixio na estruturação de suas comunidades bênticas. Os Baixios da área Contaminada são os grandes responsáveis pela variação nessa escala, uma vez que B3 e B4 são muito heterogêneos em relação a B1 e B2. Mesmo submetidos aos mesmos padrões de enriquecimento orgânico e com semelhanças granulométricas, as comunidades dos Baixios B3 e B4, situados na margem externa, sofrem um hidrodinamismo mais pronunciado, o que possivelmente gerou as diferenças nesta escala espacial. Além da hidrodinâmica, os padrões de variabilidade nesta escala também podem ser modulados por características intrínsecas às populações locais, como suas histórias de vida e modos de dispersão (NEGRELLO FILHO *et al.*, 2006).

Ao contrário das evidências encontradas na literatura corrente, as análises não indicaram as menores escalas espaciais (de centímetros a dezenas de metros) como as principais fontes de variação da macrofauna, geralmente atribuída a processos em nível de indivíduos, como competição e bioturbação (UNDERWOOD *et al.*, 2000). Fatores abióticos de larga escala definem padrões mais amplos de distribuição e, dentro destes padrões, outros processos operam continuamente em escalas menores, modificando a distribuição e abundância das espécies (MORRISSEY *et al.*, 1992). No sub-estuário da Cotinga o enriquecimento orgânico age como uma força efetiva na estruturação do macrobentos.

Padrões de distribuição e dominância da fauna bêntica são tradicionalmente utilizados como indicadores da saúde e condição de ecossistemas costeiros (BORJA *et al.*, 2000; DAUER, 1993). No presente trabalho, a abundância, riqueza de espécies e diversidade foram, de maneira geral, maiores na área Contaminada, onde também houve a dominância numérica dos táxons reconhecidamente oportunistas Tubificinae sp1, Capitellidae e *Laonereis culveri*. Isso indica que a área sob influência dos efluentes da cidade Paranaguá encontra-se em um nível moderado de eutrofização (PEARSON & ROSENBERG, 1978). Cargas orgânicas excessivas, por outro lado, são tipicamente refletidas pela drástica redução da diversidade e a presença de poucas espécies oportunistas com elevada densidade e biomassa. Entre os Baixios da área Contaminada, a estrutura das associações de B1 indica uma condição mais severa de eutrofização, com alta densidade e biomassa de Tubificinae sp1, *L. culveri* e Capitellidae, com menor número de espécies e diversidade H' em relação aos demais baixios contaminados. Diversos trabalhos têm mostrado a correspondência entre diferentes níveis de eutrofização e as respostas bênticas, evidenciando a previsibilidade desses indicadores, apesar da ausência de trabalhos que demonstrem relações diretas de causalidade (GRALL & CHAUVAUD, 2002; MAGNI *et al.*, 2009).

Em síntese, a variabilidade espacial das associações macrobênticas entremarés do sub-estuário da Cotinga concentrou-se na escala de Baixios (10^2 m), condicionada por forçantes naturais intrínsecas a esta escala. Contudo, a descarga de efluentes urbanos também influencia na qualidade do sedimento e na distribuição da macrofauna local nas maiores escalas espaciais investigadas (10^3 m). Os padrões de distribuição e ocorrência da fauna bêntica indicam uma condição moderada de eutrofização, apenas na área mais interna do canal, em contato direto e mais prolongado com os efluentes urbanos, correspondente aos Baixios B1 e B2 da área Contaminada. Nossos resultados evidenciaram alterações ecológicas importantes na estrutura das comunidades bênticas de regiões próximas à cidade de Paranaguá, relacionadas ao descarte de efluentes urbanos. Estes efeitos são raramente monitorados, e eventuais planos de gestão de resíduos devem incorporar a variabilidade espacial das comunidades bênticas identificadas no presente estudo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, v. 26, p. 32–46, 2001.

- 288 ANDERSON, M. J. Animal-sediment relationships re-visited: Characterizing species
289 distributions along an environmental gradient using canonical analysis and quantile
290 regression splines. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 366,
291 p.16-27, 2008.
- 292 BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B. lme4: Linear mixed-effects models using
293 S4 classes. R package version 0.999375-40. 2011.
- 294 BIGARELLA, J. J.; KLEIN, R. M.; LANGE, R. B.; LOYOLA E SILVA, J.; LARACH,
295 J. O. I.; RAUEN, M. J. A Serra do Mar e a porção oriental do Estado do Paraná.
296 Curitiba, Secretaria do Estado do Planejamento, Governo do Paraná, 1978. 248 p.
- 297 BORJA, A.; FRANCO, J.; PÉREZ, V. A marine biotic index to establish the ecological
298 quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments.
299 **Marine Pollution Bulletin.**, v.40, n.12, p.1100–1114, 2000.
- 300 BRAY, J.R.; CURTIS, J.T. An ordination of the upland forest communities of Southern
301 Wisconsin. *Ecological Monographies*, v. 27, p. 325-349, 1957.
- 302 CHAPMAN, M.; TOLHURST, J.; MURPHY, R.; UNDERWOOD, A. J. Complex and
303 inconsistent patterns of variation in benthos, micro-algae and sediment over multiple
304 spatial scales. **Marine Ecology Progress Series**, v. 398, p. 33-47, 2010.
- 305 COMPANHIA DE AGUAS DO BRASIL: CAB Águas de Paranaguá. Relatório anual.
306 2010.
- 307 DAUER, D. M. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic
308 community structure. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 5, p. 249-257, 1993.
- 309 DAUVIN, J. C. Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus
310 or debate for the future. **Marine Pollution Bulletin**, v. 55, p. 271-81, 2007.
- 311 FERREIRA, J. G.; ANDERSEN, J. H.; BORJA, A.; BRICKER, S. B.; CAMP, J.;
312 SILVA, M. C.; GARCÉS, E.; HEISKANEN, A. S.; HUMBORG, C.; IGNATIADES,
313 L.; LANCELOT, C.; MENESGUEN, A.; TETT, P.; HOEPFFNER, N.; CLAUSSEN, U.
314 Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the
315 European Marine Strategy Framework Directive. **Estuarine, Coastal and Shelf
316 Science**, v. 93, p. 117–131, 2011.
- 317 GILBERT, E. R.; CAMARGO, M. G.; SANDRINI-NETO, L. rysgran: Grain size
318 analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments. 1.1.
319 <http://www.R-project.org>, 2011.
- 320 GRALL, J.; CHAUVAUD, L. Marine eutrophication and benthos: the need for new
321 approaches and concepts. **Global Change Biology**, v. 8, p. 813-830, 2002.
- 322 GRASSHOFF, K.; EHRHARDT, M.; KREMLING, K. **Methods of seawater analysis**.
323 2nd ed. Weinhein, Verlag Chemie, 1983. 419p
- 324 KNOPPERS, B. A.; BRANDINI, F. P.; THAMM, C. A. Ecological studies in the bay of
325 Paranaguá. Some physical and chemical characteristics. **Nerítica**, v. 2, p. 1- 36, 1987.

- 326 KOLM, H. E.; SCHOENENBERGER, M. F. B.; PIEMONT, M. R.; SOUZA, P. S. A.;
 327 SCHNELL E SCÜHL, G., MUCCIATTO, M. B.; MAZZUCO, R. Spatial variation of
 328 bacteria in surface waters of Paranaguá Bay, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of**
 329 **Biology and Technology**, v.45, n.1, p.27-34, 2002.
- 330 LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. The subtropical
 331 estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. **In Coastal Marine Ecosystems of Latin**
 332 **America**, SEELIGER, U.; LACERDA, L.D.; KJERFVE, B. (eds.), Springer Verlag,
 333 NY, USA, 2000. 467p.
- 334 LANCELLOTTI D. A.; STOTZ W. B. Effects of shoreline discharge of iron mine
 335 tailings on a marine soft-bottom community in northern Chile. **Marine Pollution**
 336 **Bulletin**, v. 48, p. 303–312, 2004.
- 337 LERBERG, S. B., HOLLAND, F., SANGER, D. M. Responses of tidal creek
 338 macrobenthic communities to the effects of watershed development. **Estuaries**, v. 23, p.
 339 838–853, 2000.
- 340 LEVIN, S. A. The problem of pattern and scale in ecology. **Ecology**, v. 73, p. 1943-
 341 1967, 1992.
- 342 MAGNI, P.; TAGLIAPIETRA, D.; LARDICCI, C.; BALTHIS, L.; CASTELLI, A.;
 343 COMO, S.; FRANGIPANE, G.; GIORDANI, G.; HYLAND, J.; MALTAGLIATI, F.;
 344 PESSA, G.; RISMONDO, A.; TATARANNI, M.; TOMASSETTI, P.; VIAROLI, P.
 345 Animal-sediment relationships: evaluating the ‘Pearson-Rosenberg paradigm’ in
 346 Mediterranean coastal lagoons. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, p. 478–486, 2009.
- 347 MARTINS, C. C.; BRAUN, J. A. F.; SEYFFERT, B. H.; MACHADO, E. C.;
 348 FILLMANN, G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal
 349 steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system,
 350 Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 2137–2143, 2010.
- 351 MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 344/04. Brasília:
 352 Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2004.
- 353 MORRISEY, D. J.; HOWITT, L.; UNDERWOOD, A. J.; STARK, J. S. Spatial
 354 variation in soft-sediment benthos. **Marine Ecology Progress Series**, v. 81, p. 197-204,
 355 1992.
- 356 NEGRELLO FILHO, O. A.; UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G. Recolonization
 357 of infauna on a tidal flat: an experimental analysis of modes of dispersal. **Journal of**
 358 **Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 328, p. 240-250, 2006.
- 359 NOERNBERG, M A; LAUTERT, L F C; ARAÚJO, A D; MARONE, E;
 360 ANGELOTTI, R; NETTO JR, J P B. Remote Sensing and GIS Integration for Modeling
 361 the Paranaguá Estuarine Complex - Brazil. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p.
 362 1627-1631, 2006.
- 363 NORÉN, K.; LINDEGARTH, M. Spatial, temporal and interactive variability of
 364 infauna in Swedish coastal sediments. **Journal of Experimental Marine Biology and**
 365 **Ecology**, v. 317, p. 53-68, 2005.

366 OKSANEN, J.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; O'HARA, B.; SIMPSON, G. L.;
 367 SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H.; WAGNER, H. *vegan: Community*
 368 *Ecology Package*. R package version 1.17-11. <http://www.R-project.org>, 2011.

369 PEARSON, T. H.; ROSENBERG, R. Macrobenthic succession in relation to organic
 370 enrichment and pollution of the marine environment. **Oceanography and Marine**
 371 **Biology: An Annual Review**, v. 16, p. 229-311, 1978.

372 PINHEIRO, J. C.; BATES, D. M. **Mixed-Effects Models in S and S-PLUS**. New
 373 York: Springer-Verlag, 2000. 528p.

374 R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R
 375 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>, 2009.

376 SANDRINI-NETO, L.; CAMARGO, M. G. GAD: an R package for ANOVA designs
 377 from general principles. <http://www.R-project.org>, 2011.

378 SNELGROVE, P. V. R.; BUTMAN, C. A. Animal-sediment relationships revisited:
 379 cause versus effect. **Oceanography and Marine Biology Annual Review**, v. 32, p.
 380 111–177, 1994.

381 STRICKLAND, J. D. H., AND PARSONS, T. R. **A practical handbook of seawater**
 382 **analysis. Bulletin of the Fisheries Research Board**. Canada, v. 167, 1972. 310p.

383 SUGUIO, K. **Introdução à Sedimentologia**. 1ª ed. São Paulo, Edgard Blücher/EDUSP,
 384 1973. 317 p.

385 UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G. Scales of spatial patterns of distribution of
 386 intertidal invertebrates. **Oecologia**, v. 107, p. 212–224, 1996.

387 UNDERWOOD, A. J. **Experiments in Ecology: Their logical design and**
 388 **interpretation using analysis of variance**. Cambridge. Cambridge University Press,
 389 1997. 495p.

390 UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G.; CONNELL, S. D. Observations in ecology:
 391 you cannot make progress on processes without understanding the patterns. **Journal of**
 392 **Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 250, p. 97–115, 2000.

393

CAPÍTULO 2

**INTERAÇÕES COMPLEXAS ENTRE PADRÕES ESPACIAIS E TEMPORAIS NA
MACROFAUNA BÊNTICA ENTREMARÉS SOB INFLUÊNCIA DE EFLUENTES
URBANOS**

**COMPLEX INTERACTIONS BETWEEN SPATIAL AND TEMPORAL PATTERNS
IN INTERTIDAL BENTHIC MACROFAUNA IN TIDAL FLATS UNDER SEWAGE
IMPACT**

Resumo

Neste estudo foi aplicado um modelo linear de cinco fatores para testar as diferenças espaciais e temporais na macrofauna de baixios entremarés submetidos a diferentes níveis de contaminação por efluentes urbanos. Os fatores espaciais amostrados foram Condições (Contaminado e Não-Contaminado), Baixios (10^2 m), Pontos (10^1 m) e os fatores temporais incluíram os períodos de Verão e Inverno, com 3 quinzenas amostradas em cada período. As amostragens foram realizadas durante as marés baixas de sizígia e os pontos foram organizados paralelamente a linha d'água, distanciados 10 m entre si e correspondem a quadrats de 1m^2 demarcados com estacas. Em cada ponto foram tomadas amostras para análises das variáveis ambientais e três amostras de fauna. O modelo linear foi aplicado a uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) que foi complementada por uma ordenação nMDS (Escalonamento Multidimensional não Métrico), baseada em uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis. Para as análises univariadas, foi realizada uma análise de variância permutacional. A relação entre as variáveis ambientais e biológicas foi analisada através de uma Análise de Correspondência Canônica (CCA). As maiores variabilidades foram observadas entre Condições, Baixios e Quinzenas, sendo que a quinzena 3 foi distinta das demais. Na área Contaminada houve predominância de organismos indicadores de contaminação orgânica associados às altas concentrações de coprostanol, principalmente Tubificinae sp2 no Baixo 1. Na área Não-Contaminada o Baixo 2 apresentou maior *input* orgânico em relação ao Baixo 1, gerando heterogeneidade dentro da área. As diferenças entre Períodos foram maiores para as variáveis biológicas, com redução da abundância e número de espécies no Verão. As diferenças entre Períodos podem ter sido ocasionadas pelas altas temperaturas, tempo de exposição à dessecação e remoção de organismos superficiais em eventos de tempestade, comuns durante o verão.

Abstract

In this study we applied a five factors linear model to test the spatial differences on macrofauna from tidal flats with different levels of contamination by urban sewage. The factors sampled were: conditions Contaminated and Non-contaminated (10^3 m), Tidal Flats (10^2 m), Plots (10^1 m) and temporal differences between winter and summer, with 3 fortnights each. Samples were collected during low tides and the plots were oriented parallel to the waterline, spaced 10 m apart with stakes. At each plot three replicates

were taken for fauna and one for environmental variables. The linear model was applied to a permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA), which was supplemented by nMDS ordination (non-Metric Multidimensional Scaling) based on Bray-Curtis dissimilarity matrix. For univariate analyzes, we performed permutation analysis of variance. The relationship between environmental and biological variables was analyzed using Canonical Correspondence Analysis (CCA). The greatest variability was found among Conditions, Tidal Flats and Fortnights, where the third Fortnight was distinct from the others. The Contaminated site showed a predominance of organic enrichment indicators associated with high levels of Coprostanol, mainly Tubificinae sp2 in Tidal Flat 1. In the Non-Contaminated site, Tidal Flat 2 presented higher organic input than Tidal Flat 1, which led to heterogeneity within the site. The differences between Seasons were higher for biological variables, with abundance and species number reductions in the Summer. These differences may be related to variations in temperature, time of exposure to desiccation and surface defaunation by storms, common summer events.

Palavras chave: bentos; poluição; modelos mistos de ANOVA; enriquecimento orgânico; baixios entremarés.

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento da distribuição espacial e temporal da fauna em sedimentos inconsolidados é importante para a compreensão das interações das espécies bênticas entre si e com o ambiente. A macrofauna bêntica reconhecidamente apresenta respostas sensíveis às mudanças ambientais, na qualidade da água ou do sedimento (PERARSON & ROSENBERG 1978; COOKSEY & HYLAND, 2007). Em áreas poluídas, a perda da diversidade e a dominância de poucas espécies tolerantes podem modificar processos ecológicos e reduzir a complexidade da cadeia trófica a um nível irreversível (LERBERG *et al.*, 2000). Isso acontece porque as respostas às perturbações dependem da sensibilidade e dos níveis de tolerância específicos (DAUER, 1993; LANCELLOTTI & STOTZ, 2004).

As escalas de variabilidade temporal podem operar sobre a macrofauna bêntica desde dias até anos (MORRISEY *et al.*, 1992a) e as escalas espaciais de centímetros a dezenas de quilômetros (MORRISEY *et al.*, 1992b). A identificação das escalas de variabilidade espacial e temporal das comunidades é pré-requisito para a compreensão dos fatores e dos processos geradores dos padrões de distribuição dos componentes vivos e não-vivos dos ecossistemas (BERGSTRÖM *et al.*, 2002). Para isso é necessário realizar experimentos replicados não apenas nas escalas maiores, mas também em múltiplas escalas aninhadas dentro destas e replicadas adequadamente em cada escala (CHAPMAN *et al.*, 2010).

Delineamentos sem replicação temporal podem capturar apenas uma situação em determinada escala e mascarar as fontes reais de variação que se pretende avaliar, podendo gerar interpretações equivocadas. Amostragens replicadas em diferentes escalas representam uma ferramenta para compreender as variações na estrutura da comunidade e as fontes naturais de variação que podem confundir as respostas a perturbação antrópica (UNDERWOOD, 1997).

Estudos no meio marinho utilizam cada vez mais modelos de amostragem hierárquica para determinar as escalas em que as espécies e comunidades variam (MORRISEY *et al.*, 1992a e b; OLLABARIA & CHAPMAN, 2001; LINDEGARTH & UNDERWOOD, 2002). Entretanto, as relações entre a variabilidade temporal e espacial das variáveis ambientais e os padrões observados na fauna são ainda pouco compreendidas. O conhecimento desta variabilidade permite o desenvolvimento de hipóteses sobre os processos ecológicos vigentes, a avaliação de impactos ambientais e o desenvolvimento de modelos de previsão adequados, através da diferenciação entre as

mudanças causadas pelas atividades humanas e as fontes de variabilidade naturais do sistema (LEVIN, 1992; CONSTABLE, 1999; THRUSH *et al.*, 1999; UNDERWOOD *et al.*, 2000).

Este estudo pretende comparar múltiplas escalas espaciais e temporais de variabilidade da fauna e das características físico-químicas dos sedimentos em baixios entremarés não vegetados, submetidos a diferentes níveis de contaminação crônica por efluentes urbanos. A hipótese a ser testada é: se a contaminação por efluentes altera a estrutura das comunidades bênticas, modificando os processos ecológicos locais, então a variabilidade espacial e temporal da fauna bêntica será diferente entre ambientes contaminados e não contaminados por esgotos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

As amostragens foram realizadas no Sub-estuário da Cotinga, localizado no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), costa sul do Brasil (25°03'S, 48°25'W). O corpo aquoso do sub-estuário apresenta área de 21,38 Km², dos quais 34,1% correspondem à planícies de maré (NOERNBERG *et al.*, 2006) (Fig. 1).

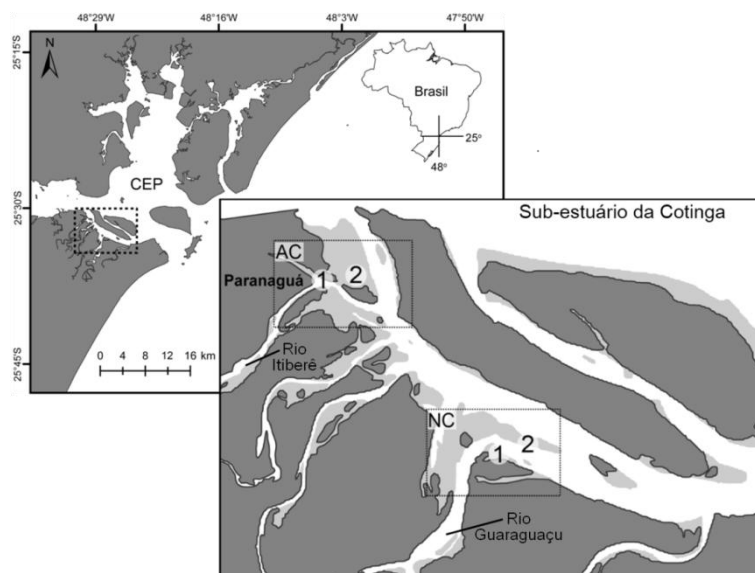


Figura 1: Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e sub-estuário da Cotinga. Baixios 1 e 2 amostrados na área Contaminada (AC), e área Não-Contaminada (NC).

Um de seus principais tributários é o Rio Itiberê, onde são despejados esgotos e efluentes urbanos gerados na cidade de Paranaguá. Os contaminantes são diluídos a partir da região interna e mediana da baía em direção à sua desembocadura, ao longo do Canal da Cotinga. Cerca de 50% da população da cidade de Paranaguá é contemplada

com tratamento de esgoto, sendo o restante liberado *in natura* (CAB Águas de Paranaguá, 2010).

2.2 Delineamento Amostral

Para analisar as múltiplas escalas de variabilidade temporal e espacial, foi elaborado um modelo linear de cinco fatores:

- Fatores temporais: Período – Pe (Verão e Inverno); Quinzena – Qu (três níveis aninhados em Período).
- Fatores espaciais: Condição - Co (Contaminado e Não-Contaminado); Baixo - Ba (dois níveis aninhados em Condição); Ponto - Po (quatro níveis aninhados em Baixo).

Os fatores Período e Condição são fixos e os demais fatores espaciais e temporais são aleatórios, sendo os fatores temporais ortogonais aos fatores espaciais (Fig. 2).

Modelo linear:

$$X = \mu + Pe_i + Qu(Pe)_{j(i)} + Co_k + Ba(Co)_{l(k)} + Po(Ba(Co))_{m(l(k))} + PeCo_{ik} + PeBa(Co)_{il(k)} + PePo(Ba(Co))_{im(l(k))} + Qu(Pe)Co_{j(i)k} + Qu(Pe)Ba(Co)_{j(i)l(k)} + Qu(Pe)Po(Ba(Co))_{j(i)m(l(k))} + \epsilon_{n(ijklm)}.$$

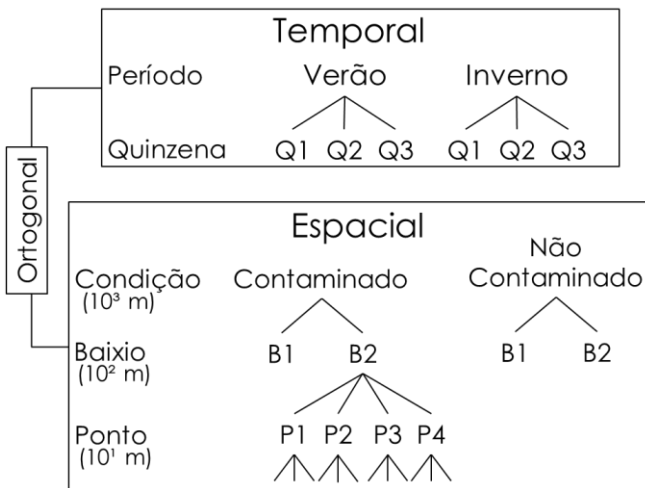


Figura 2: Diagrama do delineamento amostral adotado, contendo as escalas de variabilidade temporal e espacial, correspondentes aos fatores do modelo linear. Foram analisados dois Períodos (Verão e Inverno) em três Quinzenas por Período (Q1, Q2 e Q3). Em cada Quinzena foram amostradas duas Condições (Contaminado e Não-Contaminado) com dois Baixios por condição (B1 e B2), quatro Pontos por Baixo (P1, P2, P3 e P4) e três réplicas para cada Ponto, totalizando 288 unidades amostrais.

As campanhas, correspondentes aos Períodos, foram realizadas em 2011, compreendendo o período de Verão (janeiro e fevereiro), e o período de Inverno (junho

e julho). Os dados de precipitação da estação meteorológica de Paranaguá foram obtidos através do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2011).

As amostragens foram realizadas durante as marés baixas de sizígia, e as amostras de fauna foram obtidas com amostrador cilíndrico de PVC, com 78,5 cm² de área e 10 cm de altura, acondicionadas em sacos plásticos etiquetados e fixadas em solução de formol 6 % tamponado com tetraborato de sódio.

Os pontos foram organizados paralelamente a linha d'água, distanciados 10 m entre si e correspondem a quadrats de 1m² demarcados com estacas. Em cada ponto foram tomadas amostras para análises das variáveis ambientais. As variáveis analisadas foram: profundidade da camada de oxidação, temperatura do sedimento, salinidade da água intersticial, granulometria (caracterização textural, teores de carbonato de cálcio e matéria orgânica) e química (carbono orgânico total, nitrogênio total e fósforo total).

Amostras para análise de esteróis fecais foram tomadas sem réplicas espaciais, na quantidade de uma amostra por baixio, em cada ocasião amostral (Quinzena). Os esteróis fecais são compostos estáveis que se acumulam nos sedimentos e são amplamente utilizados como marcadores orgânicos na detecção de introdução de esgotos no ambiente marinho e estuarino (SEGUEL *et al.*, 2001).

As análises granulométricas foram realizadas através do método descrito por Suguio (1973) e os parâmetros granulométricos foram obtidos em ambiente R com auxílio do pacote *rysgran* (GILBERT *et al.*, 2011). O teor de carbonato de cálcio (CaCO₃) foi obtido pela diferença entre o peso inicial e final de cada amostra após ataque químico com solução de ácido clorídrico a 1 mol.L⁻¹. O teor de matéria orgânica foi determinado pela diferença entre os pesos inicial e final após queima em forno mufla a 550°C por 1 hora. As concentrações de nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) foram determinadas pelo método de Grasshoff *et al.* (1983), e as concentrações de carbono orgânico total (COT) pelo método de Strickland e Parsons (1972).

As análises de esteróis fecais nos sedimentos foram baseadas na extração com soxhlet por 8 horas, adsorção em coluna cromatográfica contendo sílica e alumina desativadas à 5%, derivatização com BSTFA/TCMS, segundo método analítico descrito em Kawakami e Montone (2002). Os compostos foram resolvidos por cromatografia gasosa acoplada de um detector de ionização de chama, GC-FID.

2.3 *Análise de Dados*

As múltiplas escalas de variabilidade espaciais e temporais foram avaliadas através de um modelo linear misto (fatores fixos e aleatórios) envolvendo relações hierárquicas e ortogonais entre os fatores. Este modelo complexo de 11 termos gerou cinco termos não testáveis, os quais foram aproximados pelo procedimento de combinações lineares de efeitos descrito por Satterthwaite (1946), detalhado por Zar (2010) e implementado por Anderson (2008) no suplemento PERMANOVA+ do software PRIMER v6, o qual foi aqui utilizado tanto para as análises uni- como multivariadas.

O modelo linear foi aplicado a uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) para identificar a variação nos padrões espaciais e temporais da comunidade. A PERMANOVA foi complementada por uma ordenação nMDS (Escalonamento Multidimensional não Métrico), baseada em uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis.

Para as análises univariadas, o mesmo modelo linear foi analisado através de uma análise de variância permutacional (algumas vezes chamada de PERANOVA, e.g., Di Carlo & Kenworthy (2008), Sweeting *et al.* (2009) e Ezgeta-Balić *et al.* (2011)) baseada na distância euclideana (ANDERSON, 2001). A aplicação da distância euclideana como medida de associação torna este teste semelhante a uma ANOVA paramétrica (Anderson *et al.* 2008). As PERANOVAs foram realizadas sobre a abundância total (N), número de espécies (S), diversidade de Shannon-Wiener (H') e abundância relativa dos seis táxons numericamente dominantes e mais ocorrentes, que juntos somaram 80% da abundância total (Tab. 5). As estimativas dos componentes de variação que resultaram negativas foram igualadas a zero e as estimativas dos fatores restantes recalculadas (FLETCHER & UNDERWOOD, 2002).

A relação entre as variáveis ambientais e biológicas foi analisada através de uma Análise de Correspondência Canônica (CCA) (TER BRAAK, 1986). O método da CCA realiza uma análise direta de gradientes, relacionando diretamente as variáveis ambientais e biológicas. Os gráficos foram realizados em ambiente R (R Development Core Team, 2011).

3 RESULTADOS

Durante os meses de janeiro e fevereiro de 2011, foram amostradas as campanhas correspondentes ao Verão. Em janeiro, choveu durante 19 dias, acumulando

360 mm de chuva, enquanto em fevereiro, o acumulado foi de 320 mm ao longo de 20 dias de chuva (Fig. 3). As amostragens do Período de Inverno foram realizadas em junho e julho de 2011, que apresentaram 80 e 130 mm de chuva acumulada e 8 e 6 dias com chuva, respectivamente.

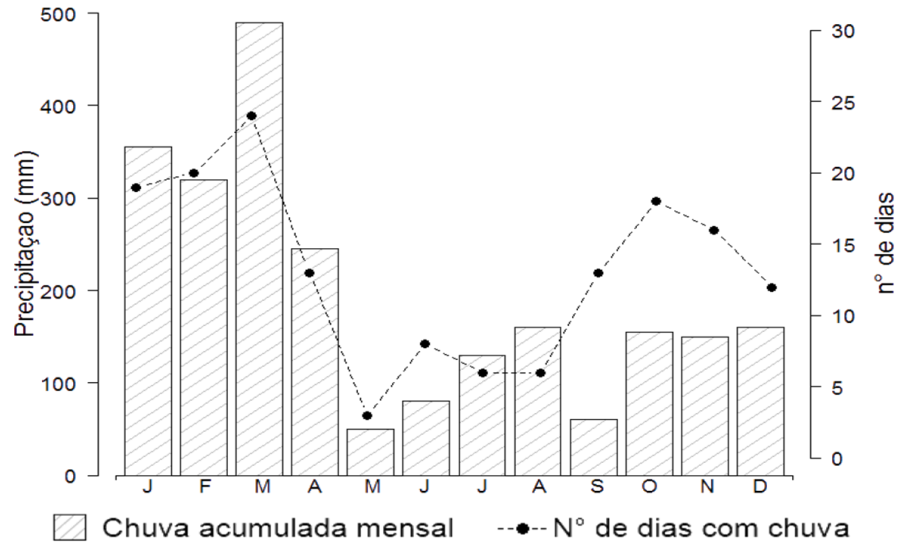


Figura 3: Chuva acumulada mensal e número de dias com chuva para o ano de 2011.

3.1 Esteróis Fecais

As análises de coprostanol indicaram contaminação, apresentando valores acima de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$, nos baixios da área Contaminada, com exceção do Verão, onde o Baixio 2 apresentou contaminação apenas na segunda Quinzena. Para a área Não-Contaminada, no Inverno os valores estiveram altos para o Baixio 2, mas não atingiram o indicativo de contaminação (Fig. 4).

Para a razão entre os compostos coprostanol e colesterol, valores acima de 1 indicam a influência de esgotos (JENG & HAN, 1994). Para a área Contaminada, apenas o Baixio 1 apresentou valores acima de 1, nas quinzenas Q1 e Q2. Na área Não-Contaminada, a razão não pôde ser calculada para o Baixio 1, pois um dos compostos apresentou valores abaixo do limite de detecção da análise, enquanto o Baixio 2 não apresentou indicadores de contaminação para os dois Períodos (Fig. 4).

A razão epicoprostanol/coprostanol permite uma estimativa do grau de tratamento do efluente. Valores abaixo de 0,2 (contribuição de efluentes sem tratamento) foram observados apenas para a área Contaminada, no Baixio 1, em todas as Quinzenas e no Baixio 2 apenas na segunda Quinzena, e os valores foram semelhantes entre os dois Períodos. Para os demais locais, a razão não pode ser

calculada (Fig. 4).

Para a razão entre coprostanol e colestanol (coprostanol/coprostanol + colestanol), valores inferiores a 0,3 indicam ambientes não poluídos, onde há predomínio de colestanol, associado a fontes naturais. Amostras com valores acima de 0,7 são associadas a sedimentos contaminados por esgoto, uma vez que o coprostanol está associado ao trato intestinal de mamíferos superiores, em especial o homem. Para valores entre 0,3 e 0,7 não se pode afirmar se há influência de esgotos, neste caso, são utilizadas outras razões para detecção da contaminação (GRIMALT *et al.*, 1990). Na área Contaminada, o Baixio 1 apresentou contaminação em todas as amostragens realizadas, enquanto o Baixio 2 se manteve entre 0,3 e 0,7. Para a área Não-Contaminada, não foi possível calcular a razão para todas as amostragens, mas os valores calculados estiveram abaixo de 0,3, valores referentes a ambientes prístinos (Fig. 4).

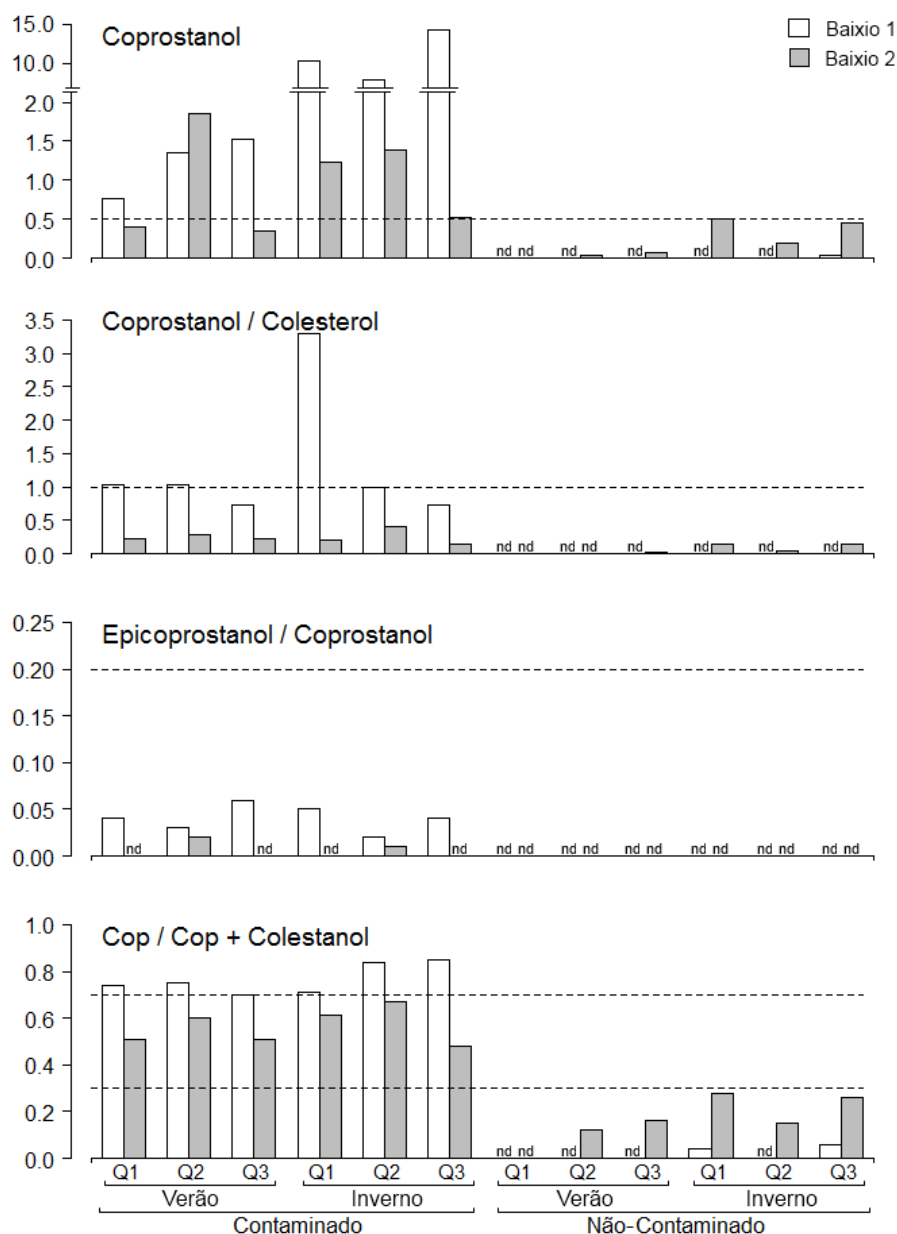


Figura 4: Níveis de coprostanol ($\mu\text{g g}^{-1}$) e razões entre esteróis fecais observadas para os Baixios 1 e 2, durante as amostragens Q1, Q2 e Q3 dos Períodos de Verão e Inverno de 2011, nas áreas Contaminada e Não Contaminada do Canal da Cotinga. Para coprostanol, valores acima de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ indicam contaminação por esgotos. Para a razão coprostanol/colesterol, valores acima de 1 indicam contaminação. Para a razão epicoprostanol/coprostanol, valores abaixo de 0,20 indicam áreas sujeitas a esgoto sem tratamento, e para a razão entre coprostanol e colestanol (cop/cop+colestanol), valores abaixo de 0,30 indicam ambientes não poluídos, e valores acima de 0,7 indicam contaminação. nd: indica que o valor não pode ser calculado, pois um dos compostos envolvidos esteve abaixo do limite de detecção da análise.

3.2 Dados Ambientais

213 Não houve diferenças nas características granulométricas dos pontos entre
 214 Condições ou Períodos. As granulometrias se mantiveram constantes durante o estudo,
 215 com predomínio de areia muito fina, variando entre pobremente selecionada e bem
 216 selecionada (Fig. 5).

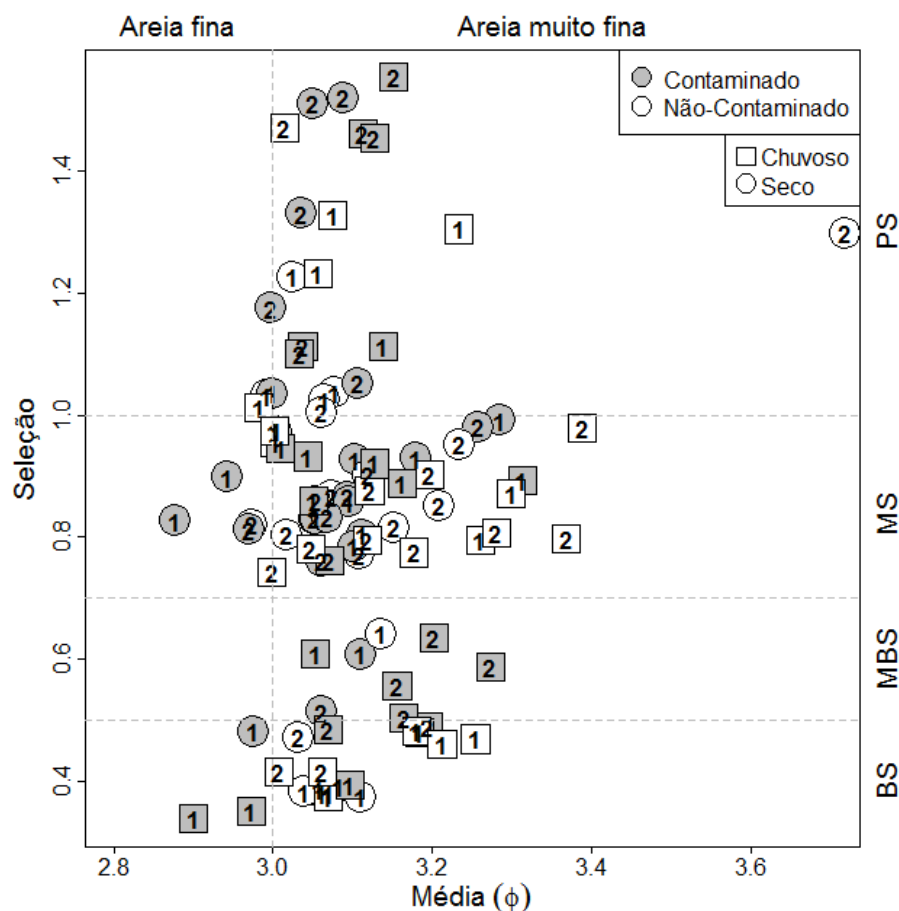


Figura 5: Tamanho médio de grão (ϕ) e grau de seleção dos sedimentos dos Baixios 1 e 2 nas áreas Contaminada e Não-Contaminada amostradas entre os Períodos de Verão e Inverno. BS: Bem Selecionado; MBS: Moderadamente Bem Selecionado; MS: Moderadamente Selecionado; PS: Pobremente Selecionado.

Os teores de nitrogênio total foram maiores na área Contaminada, principalmente no Verão, com diferenças significativas entre Baixios, nas interações Quinzena x Condição e Quinzena x Baixo (Fig. 6 e 7). Fósforo total apresentou diferenças entre Baixios, na interação Período x Baixo, e Baixo x Quinzena. Na área Não-Contaminada, o Baixo 2 apresentou concentrações constantes, enquanto no Baixo 1 houve diminuição entre o Período de Verão e Inverno. Os teores de carbono orgânico total apresentaram padrão semelhante ao fósforo total, com diferenças foram significativas entre Baixios, e nas interações Período x Condição e Quinzena x Baixo (Fig. 6 e 7).

Os teores de matéria orgânica apresentaram diferenças significativas entre Quinzenas, mas sem grandes variações entre as Condições. A profundidade da camada redox foi maior na área Não Contaminada e as diferenças significativas ocorreram entre Quinzenas, Condições e na interação Quinzena x Baixo. O teor de sedimentos finos foi

230 mais homogêneo entre os baixios da área Contaminada e apresentaram grande diferença
 231 entre os baixios da área Não-Contaminada, onde o Baixo 1 apresentou cerca de 5 % de
 232 sedimentos finos e o Baixo 2 entre 10 e 15% (Fig. 6 e 8).

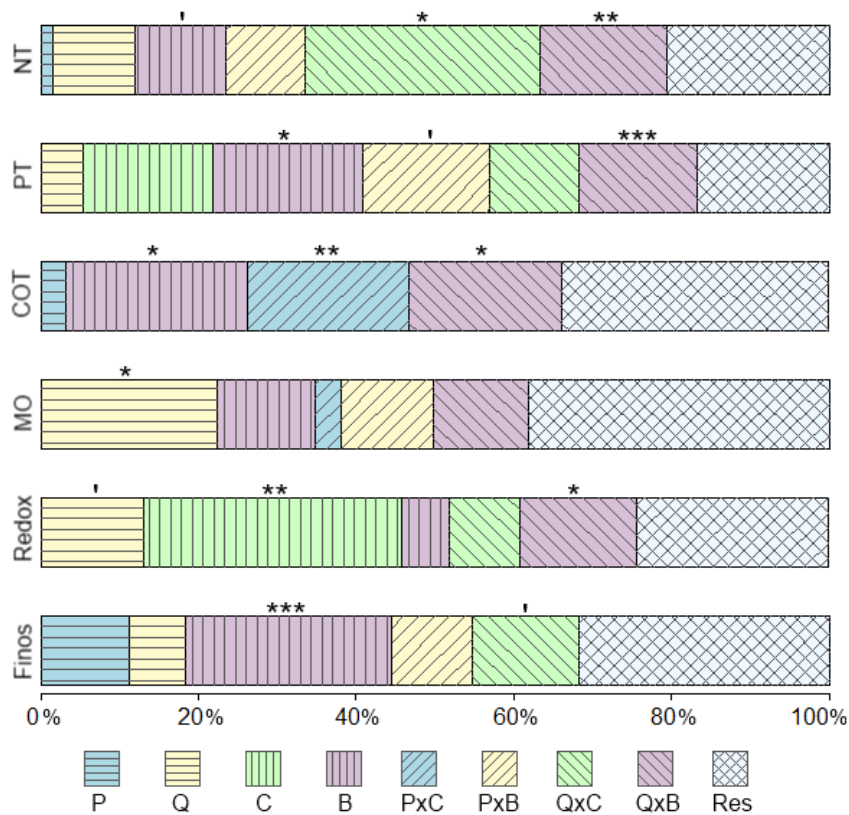


Figura 6: Estimativas de componentes de variação (%) e significância (*p*) da PERMANOVA entre as escalas temporais, espaciais e suas interações para: nitrogênio total (NT); fósforo total (PT); carbono orgânico total (COT); Tubificinae matéria orgânica (MO); profundidade da camada redox (Redox); porcentagem de sedimentos finos (Finos). P (Período); Q (Quinzena aninhada em Período); C (Condição); B (Baixo aninhado em Condição); Res (Resíduo). ‘ marginalmente significativo ($p<0,08$); * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

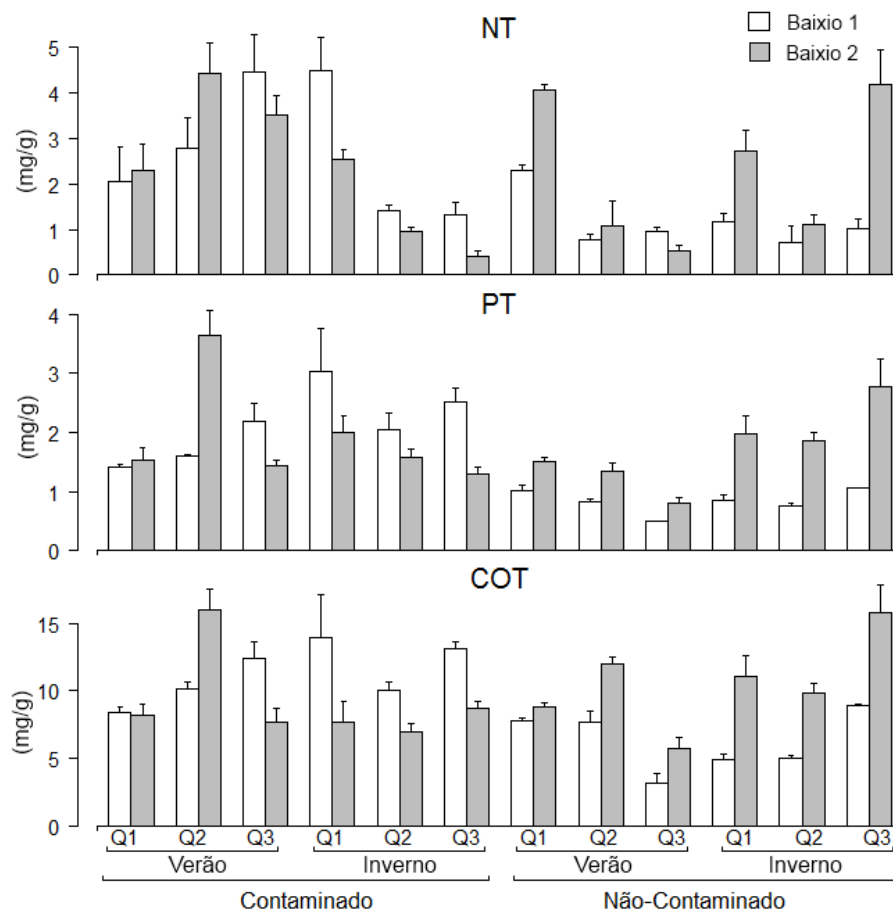


Figura 7: Médias (+ EP) de nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) e carbono orgânico total (COT) nos sedimentos associadas às escalas espaciais e temporais investigadas: Baixios (1 e 2), amostrados ao longo de Quinzenas (Q1, Q2 e Q3), para diferentes Condições (Contaminado e Não-Contaminado) durante os Períodos de Verão e Inverno.

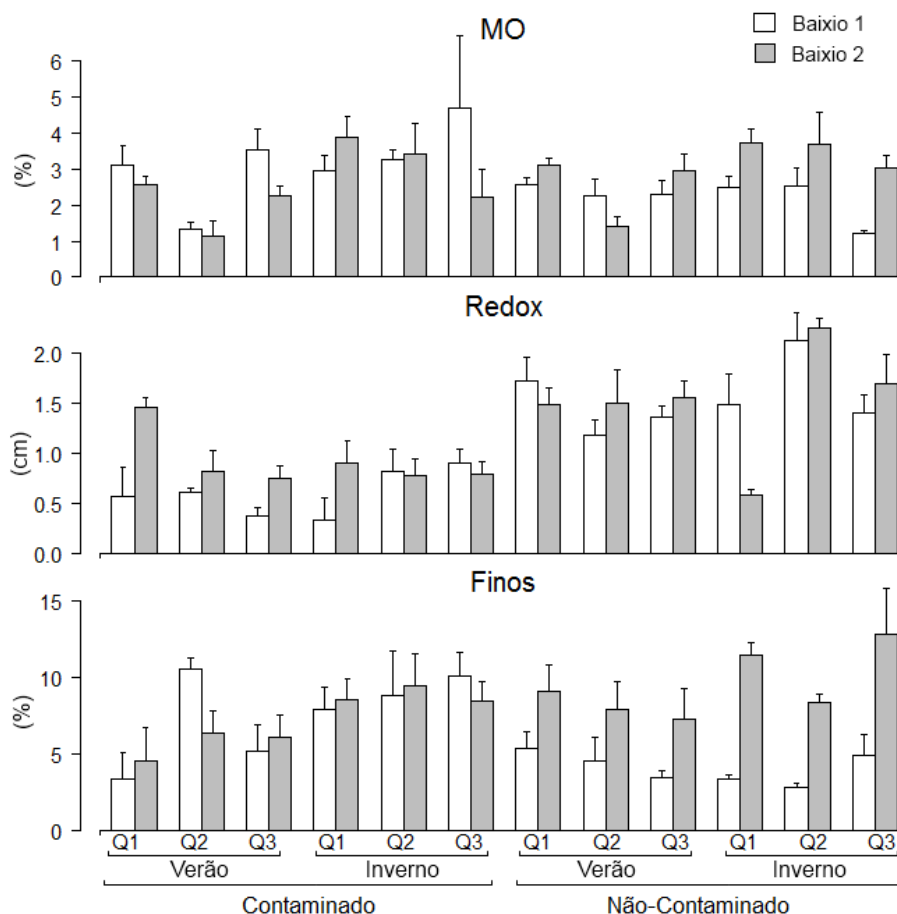


Figura 8: Médias (+ EP) de matéria orgânica (MO), profundidade da camada de oxidação (Redox) e porcentagem de sedimentos finos (Finos) nos sedimentos associadas às escalas espaciais e temporais investigadas: Baixios (1 e 2), amostrados ao longo de Quinzenas (Q1, Q2 e Q3), para diferentes Condições (Contaminado e Não-Contaminado) durante os Períodos de Verão e Inverno.

As diferenças significativas mais frequentes aconteceram entre Baixios e na interação Quinzena x Baixio, e as maiores variações ocorreram no resíduo, exceto para NT e PT, evidenciando a variabilidade espacial e temporal nas menores escalas.

3.3 Dados Biológicos

No total foram identificados 38087 organismos pertencentes a 9 filos. O filo Annelida representou 79% da abundância total, dos quais, 62% pertencem à classe Clitellata e 38% à classe Polychaeta. O filo Mollusca representou 17% da abundância total e Arthropoda 3% (Tab. 2).

No Verão foram registrados 13012 organismos pertencentes a 50 taxa, dos quais 73,2% ocorreram na área Contaminada e 26,8% na área Não-Contaminada. No Período De Inverno foram 25075, pertencentes a 80 taxa, onde 79,5% ocorreram na área Contaminada e 20,5% na área Não Contaminada.

Tabela 2: Número de indivíduos e dominância (%) dos filos registrados.

FILO	Total		Verão		Inverno	
	Nº ind.	%	Nº ind.	%	Nº ind.	%
Annelida	30112	79,03	10250	78,77	19862	79,21
Mollusca	6463	16,96	2513	19,31	3950	15,75
Arthropoda	1289	3,42	210	1,61	1079	4,30
Nemertea	141	0,37	12	0,09	129	0,51
Platyhelminthes	39	0,1	5	0,04	34	0,14
Sipuncula	30	0,08	16	0,12	14	0,06
Cnidaria	9	0,02	6	0,05	3	0,01
Echinodermata	2	0,01	0	0	2	0,01
Phoronida	2	0,01	0	0	2	0,01
Total	38087		13012		25075	

Na análise de nMDS foi possível observar a separação de grupos correspondentes aos Períodos de Verão e Inverno e às Condições em cada Período (Fig. 8). As diferenças entre Quinzenas podem ser observadas no nMDS realizados para cada Período separadamente, onde a quinzena 3 difere das quinzenas 1 e 2 em ambos os Períodos e Condições (Fig. 9 e 10).

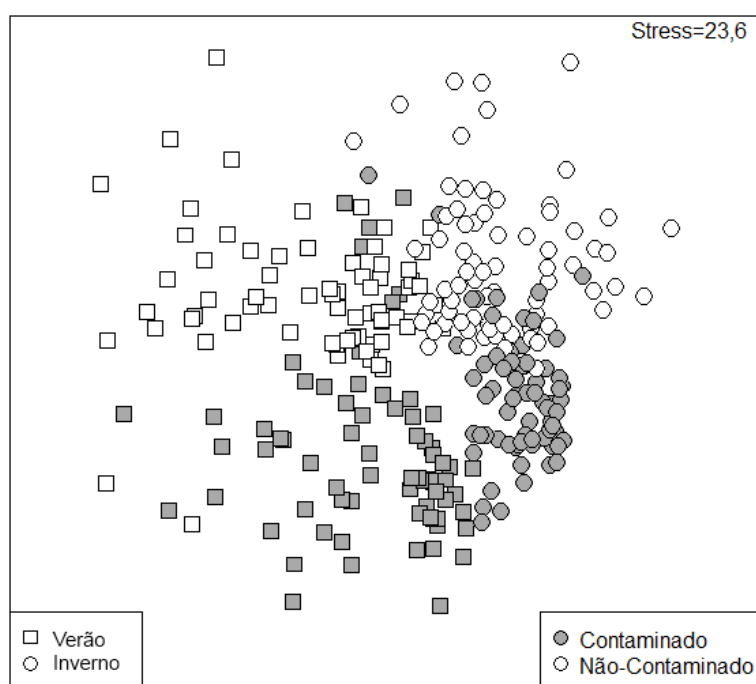


Figura 9: nMDS evidenciando as diferenças entre Períodos (Verão e Inverno) e Condições (Contaminado e Não-Contaminado).

A PERMANOVA apresentou diferenças significativas para a maioria dos termos do modelo completo, com exceção das interações Período x Condição e Quinzena x

Condição, mostrando que as diferenças entre as Condições não se alteram em relação às escalas temporais analisadas (Tab. 3). As maiores variações ocorreram na escala de Períodos (13,2%), Quinzenas (12,1%) e Condições (11,8%), estas não superando a variação entre réplicas (33%).

Tabela 3: Resultados da PERMANOVA realizada entre Períodos – P, Quinzenas – Q(P), Condições - C, Baixios - B(C) e Pontos - Po(B(C)). % - componentes de variação para fatores aleatórios ou soma dos quadrados para fatores fixos.

	GL	MQ	Pseudo-F	p	%
P	1	74928	2,97	0,014	13,2
Q(P)	4	18762	6,4	0,001	12,1
C	1	67210	2,92	0,019	11,8
B(C)	2	20099	4,55	0,001	8,5
Po(B(C))	12	1753,8	1,45	0,003	1,1
PxC	1	15494	1,61	0,119	3,6
PxB(C)	2	7492,6	1,88	0,007	4,2
PxPo(B(C))	12	1698,7	1,4	0,011	2
Q(P)xC	4	3938	1,34	0,115	1,5
Q(P)xB(C)	8	2930,9	2,42	0,001	5,3
Q(P)xPo(B(C))	48	1209,6	1,34	0,001	3,8
Resíduo	192	899,59			33

No nMDS para Períodos é possível observar a formação de grupos separando os pontos Contaminados e Não-Contaminados. Para cada condição, a Quinzena 3 formou um subgrupo, enquanto os pontos das Quinzenas 1 e 2 em cada Condição foram mais homogêneos entre si. Este padrão pode ser observado para os dois Períodos analisados (Fig. 10). Na área Contaminada, o Baixo 1 foi diferente do Baixo 2, formando subgrupos para os dois períodos. Na área Não-Contaminada, os baixios foram mais homogêneos.

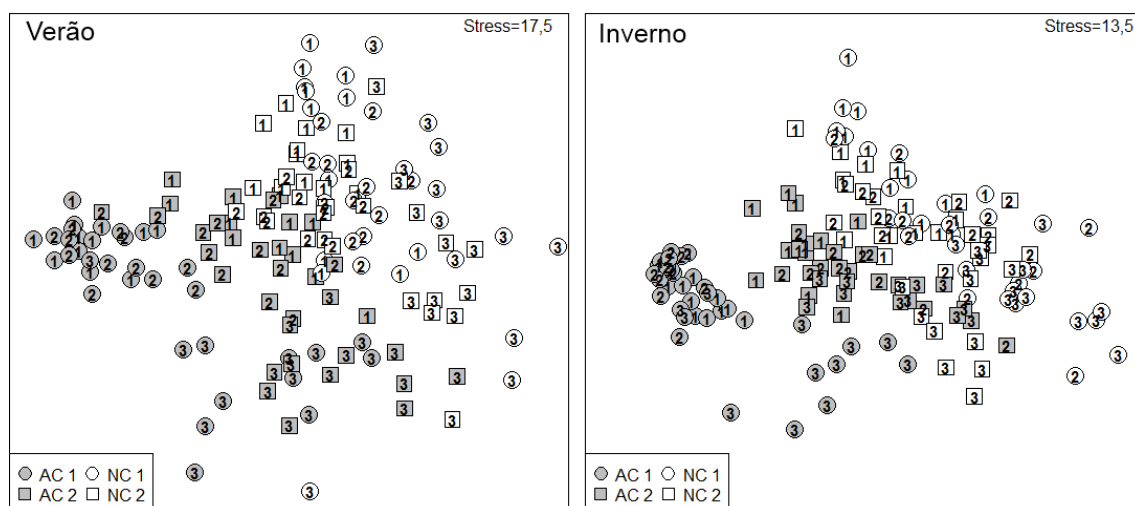


Figura 10: nMDS evidenciando as diferenças entre Quinzenas (1 a 3) e Baixios 1 e 2 em cada Condição (AC - Contaminado e NC - Não-Contaminado) para os Períodos de Verão e Inverno.

A PERMANOVA realizada individualmente entre os Períodos mostrou diferenças significativas para a maioria dos termos analisados (Tab. 4).

Para o Verão, as diferenças não foram significativas apenas para a interação Condição x Quinzena. Apesar das diferenças significativas nas menores interações, estas não apresentaram grande variação. As maiores variações foram observadas entre Condições (14,9%) e Quinzenas (18,3%), conforme os grupos observados no nMDS. A variação entre Baixios em cada Condição também foi alta (10,7%), mas a maior variabilidade foi observada entre réplicas, na escala do Resíduo (38,6%).

A PERMANOVA realizada para o Período De Inverno não apresentou diferenças significativas entre Condições, apesar da variação de 15,4% e a separação visual evidente através do nMDS. Assim como no Verão, as maiores variações ocorreram entre Quinzenas (13,7%), Condições (15,4%,) e Baixios em cada Condição (21,1%), mas ainda não superando as variações entre réplicas de 33,5%.

Tabela 4: PERMANOVA entre Quinzenas - Q, Condições - C, Baixios - B(C) e Pontos - Po(B(C)) para os Períodos de Verão e Inverno. % - componentes de variação para fatores aleatórios ou soma dos quadrados para fatores fixos.

	GL	Verão				Inverno			
		MQ	<i>Ps-F</i>	<i>p</i>	%	MQ	<i>Ps-F</i>	<i>p</i>	%
Q	2	23268	5,71	0,001	14,9	15336	6,95	0,001	13,7
C	1	52144	2,69	0,023	18,3	41283	2,04	0,108	15,4
B(C)	2	14892	2,75	0,001	10,7	17902	5,03	0,001	21,1
Po(B(C))	12	1841	1,32	0,001	1,8	1557	1,53	0,001	3,0
QxC	2	5973	1,46	0,271	2,9	3398	1,54	0,13	2,5
QxB(C)	4	4078	2,92	0,001	8,3	2208	2,17	0,001	5,0
QxPo(B(C))	24	1397	1,35	0,004	4,5	1018	1,52	0,001	5,8

Tabela 5: Dominância (%) e dominância acumulada (% Ac.) dos táxons numericamente dominantes.

	%	% Ac.
Tubificinae sp1	39,3	39,3
<i>L. culveri</i>	13,8	53,1
<i>H. australis</i>	10,6	63,7
Tubificinae sp2	9,7	73,4
<i>Sigambra</i> sp.	4,8	78,2
<i>Capitella</i> sp.	2,8	81

275 Para abundância total observou-se diferenças significativas entre Quinzenas,
 276 Baixios e para as interações Período x Condição, Quinzena x Baixio e Quinzena x Ponto
 277 (Fig. 10). Na figura 11 é possível notar que a diferença entre os Baixios 1 e 2 foram
 278 acentuadas especialmente na área Contaminada, em ambos os Períodos, onde o Baixio 1
 279 apresentou as maiores abundâncias.

280 O número de espécies apresentou diferenças significativas entre Períodos,
 281 Quinzenas, Pontos, na interação Período x Condição e marginalmente significativa entre
 282 Quinzena x Condição, com valor *Pseudo-F* superior a 3. Através da visualização gráfica
 283 pode-se notar que o número de espécies foi menor durante o Verão, em relação ao
 284 Período De Inverno, e a Quinzena 3 apresentou os menores valores (Fig. 11 e 12).

285 A diversidade H' variou significativamente entre Períodos, Baixios e na
 286 interação Quinzena x Condição. Através da figura 10 pode-se notar que a diversidade é
 287 menor para o Verão. A diferença entre os baixios é maior na área Contaminada, onde o
 288 Baixio 1 apresenta diversidade menor que o Baixio 2 (Fig. 11 e 12).

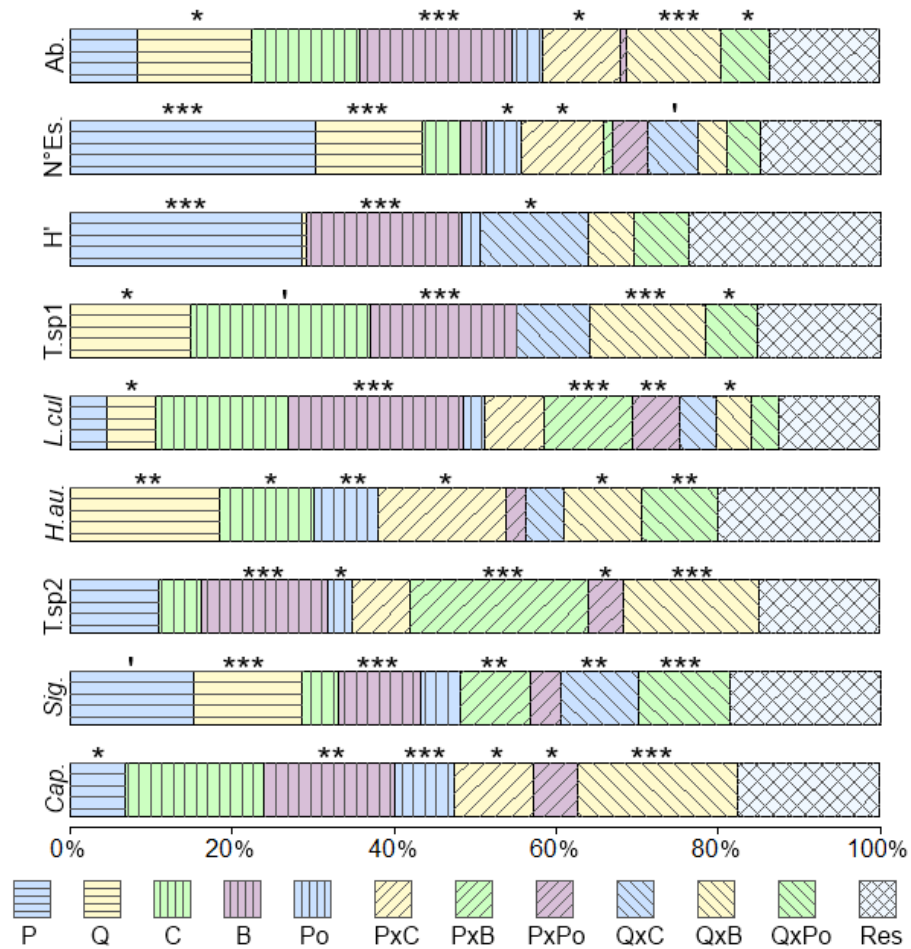


Figura 11: Estimativas de componentes de variação para fatores aleatórios ou soma dos quadrados para fatores fixos e significância da PERANOVA entre as escalas temporais, espaciais e suas interações para: abundância total; número de espécies; diversidade de Shannon-Wiener; Tubificinae sp1; *Laeonereis culveri*; *Heleobia australis*; Tubificinae sp2; *Sigambra* sp.; *Capitella* sp. P (Período); Q (Quinzena aninhada em Período); C (Condição); B (Baixo aninhado em Condição); Po (Ponto aninhado em Baixo e Condição); Res (Resíduo). † marginalmente significativo ($p < 0,08$); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

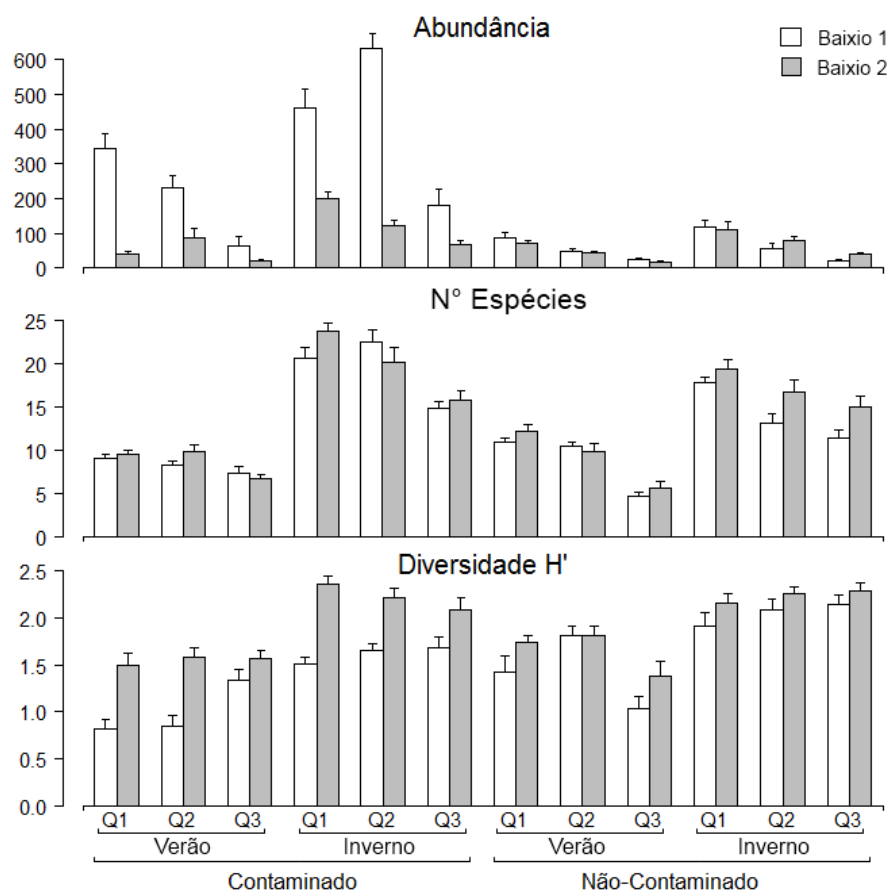


Figura 12: Médias (\pm EP) da Abundância Total, Número de Espécies e Diversidade H' da macrofauna bêntica associadas às escalas espaciais e temporais investigadas: Baixios (1 e 2), amostrados ao longo de Quinzenas (Q1, Q2 e Q3), para diferentes Condições (Contaminado e Não-Contaminado) durante os Períodos de Verão e Inverno.

Tubificinae sp1 apresentou diferenças entre Quinzenas, Condições, Baixios, nas interações Quinzena x Baixo e Quinzena x Ponto. As diferenças entre Baixios ocorreram principalmente nas áreas Contaminadas, onde o Baixo 1 apresentou valores superiores ao Baixo 2, diminuindo ao longo das Quinzenas, com a menor diferença entre Baixios observada na Quinzena 3. *Laeonereis culveri* variou entre Quinzenas, Baixios, nas interações Período x Baixios, Período x Ponto e Quinzena x Baixo. As diferenças se concentraram na área Contaminada onde o Baixo 1 apresentou maiores densidades de *L. culveri*, principalmente no Inverno. Para a área Não-Contaminada, poucos organismos foram registrados (Fig. 11 e 13).

No Verão, *Heleobia australis* foi predominante em áreas Não-Contaminadas, com maior ocorrência no Baixo 1. No inverno, *H. australis* ocorreu nas duas Condições, com predominância nas Quinzenas 1 e 2, diminuindo em Q3. As diferenças foram significativas entre Quinzenas, Condições, Pontos, nas interações Período x Condição e Quinzena x Baixo (Fig. 11 e 13).

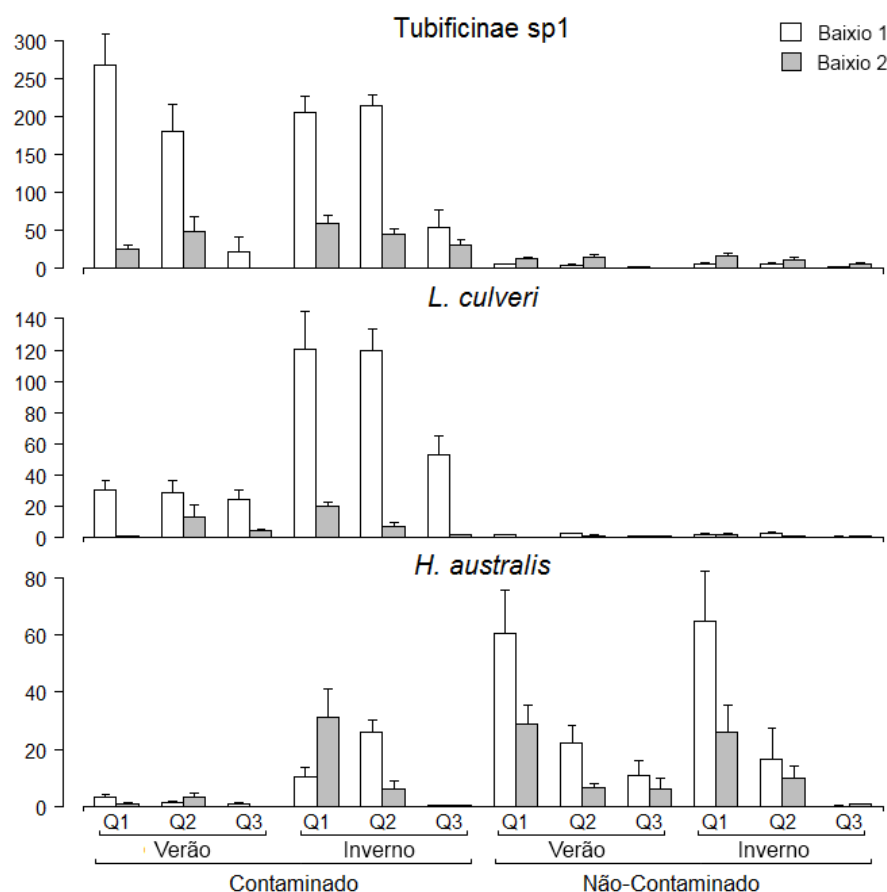


Figura 13: Médias (\pm EP) de *Tubificinae* sp1, *Laeonereis culveri* e *Heleobia australis* associadas às escalas espaciais e temporais investigadas: Baixios (1 e 2), amostrados ao longo de Quinzenas (Q1, Q2 e Q3), para diferentes Condições (Contaminado e Não-Contaminado) durante os Períodos de Verão e Inverno.

Tubificinae sp2 ocorreu quase exclusivamente no Baixo 1 Contaminado, durante o Inverno e apresentou diferenças significativas entre Baixios, Pontos, nas interações Período x Baixo, Período x Ponto e Quinzena x Baixo. *Sigambra* sp apresentou diferenças significativas entre Períodos, Quinzenas, Baixios, nas interações Período x Baixo, Quinzena x Condição e Quinzena x Ponto. As abundâncias de *Sigambra* sp. foram ligeiramente menores na área Contaminada, e no Inverno, em relação ao Verão. Houve diferença entre Baixios em todas as amostragens, exceto para a área Contaminada no Verão. A Quinzena 3 apresentou os menores valores em todas as amostragens. *Capitella* sp. foi predominante no Baixo 1 da área Contaminada, com poucas ocorrências no Baixo 2 e na área Não-Contaminada. As diferenças foram significativas entre Períodos, Baixios, Pontos, e nas interações Período x Condição, Período x Ponto e Quinzena x Baixo (Fig. 11 e 14).

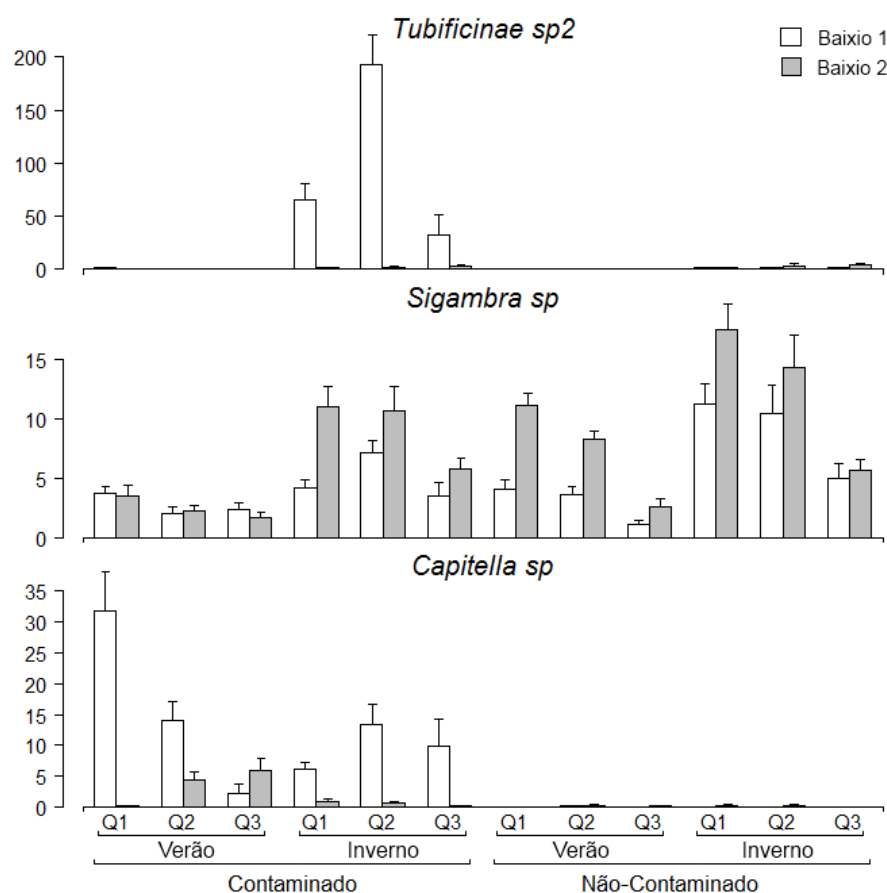


Figura 14: Médias (\pm EP) de *Tubificinae sp2*, *Sigambra sp.* e *Capitella sp.* associadas às escalas espaciais e temporais investigadas: Baixios (1 e 2), amostrados ao longo de Quinzenas (Q1, Q2 e Q3), para diferentes Condições (Contaminado e Não-Contaminado) durante os Períodos de Verão e Inverno.

Nas CCAs foi possível observar que os pontos Não-Contaminados apresentaram maiores valores de pH e maior profundidade da camada de oxidação (Redox) para os dois Períodos. Os pontos Contaminados foram correlacionados positivamente com os vetores NT, PT, COT e Finos, indicando enriquecimento orgânico no local (Fig. 15).

Entre as espécies analisadas, *Tubificinae sp1*, *L. culveri* e *Capitella sp.* foram correlacionadas com a área Contaminada, e *H. australis* e *Sigambra sp.* com a área Não-Contaminada. *Tubificinae sp2* foi correlacionado com a área Contaminada apenas no Inverno, pois no Verão sua ocorrência foi baixa. *H. australis* apresenta maior correlação com os pontos do Baixo 1, enquanto *Sigambra sp.* encontra-se mais próxima aos pontos do Baixo 2.

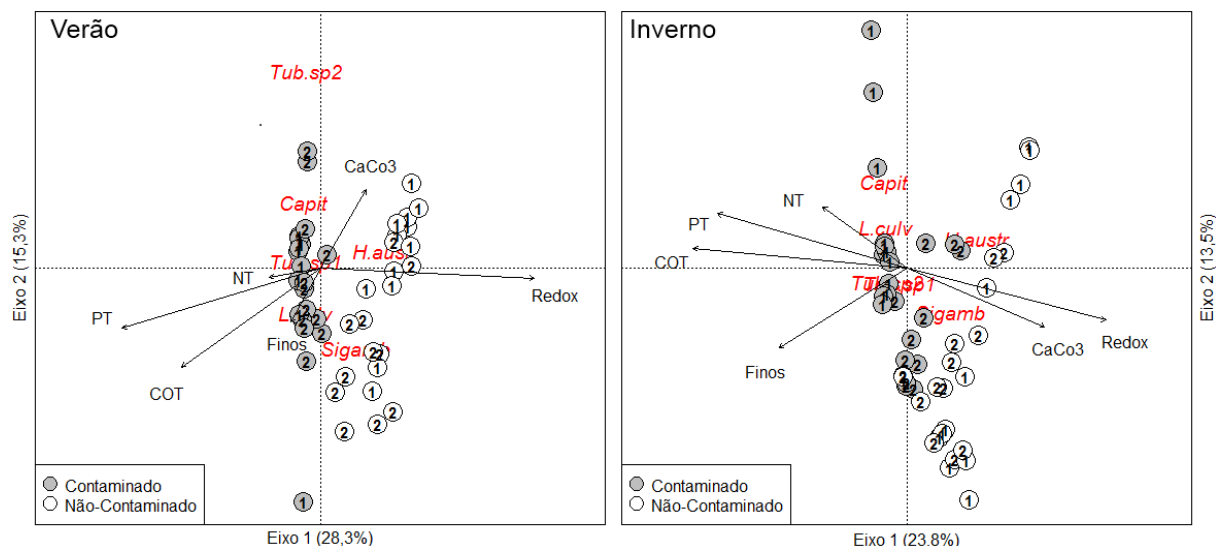


Figura 15: Análise de Correspondência Canônica dos pontos amostrais Contaminados e Não-Contaminados e Baixios (1 e 2) para os Períodos de Verão e Inverno. Vetores: NT, nitrogênio total; PT, fósforo total; COT, carbono orgânico total; Finos, sedimentos finos; Redox, profundidade da camada de oxidação; CaCO₃, Carbonato de Cálcio.

Para a fauna, as diferenças significativas foram mais frequentes entre Baixios, Quinzenas, e na interação Quinzena e Baixo, evidenciando as diferenças na escala da centena de metros, dentro das áreas, e a variabilidade temporal de pequena escala, entre Quinzenas.

4 DISCUSSÃO

Entre as variáveis biológicas, a escala espacial de maior variabilidade foi a de Condição (10³ m), seguida pela de Baixo (10¹ m) e a temporal foi a de Quinzena, onde a Quinzena 3 apresentou a maior diferença em relação às demais. As diferenças significativas na interação Quinzena x Baixo foram as mais frequentes. Os Baixios de cada Condição foram heterogêneos, exceto para o número de espécies. A diferença entre Condições foi evidente nas análises multivariadas, e foi significativa para a maioria das variáveis, apresentando interação com Períodos ou Quinzenas. As variáveis ambientais mostraram grande heterogeneidade entre Baixios e na interação Quinzena x Baixo, com maior variabilidade na escala do resíduo.

No Baixo 1 da área Contaminada, níveis mais severos de contaminação favoreceram a dominância de espécies indicadoras como Tubificinae sp1 e sp2 e *Capitella* sp., além de altas densidades de *L. culveri*, espécie reconhecidamente tolerante ao enriquecimento orgânico, (DAUER & CONNER, 1980; PAGLIOSA, 2005). Oligoquetas da subfamília Tubificinae ocorreram principalmente durante o Inverno, elevando os valores de abundância total para a área Contaminada durante este

período. Estes organismos apresentam picos irregulares de abundância, com longos períodos reprodutivos e recrutamento nas épocas mais quentes do ano (GIERE, 2006). Contudo, a ausência de relação com temperaturas mais quentes no presente trabalho se deve a presença de contaminantes orgânicos em maiores concentrações no inverno. Seu crescimento rápido, desenvolvimento direto e tamanho reduzido, característicos ao modo de vida oportunista, possibilita aos tubificídeos a ocupação bem sucedida de ambientes poluídos organicamente e com baixa concentração de oxigênio dissolvido (ARIMORO *et al.*, 2007; GAMITO, 2008).

As ocorrências de Tubificinae sp2 coincidiram com os níveis máximos de coprostanol, cerca de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ (Fig. 4), valores considerados elevados para a região. Martins *et al.* (2010) encontraram valores máximos de $2,2 \mu\text{g g}^{-1}$ em sedimentos próximos ao porto de Paranaguá e $0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ no sublitoral próximo a área amostrada neste estudo. Este registro elevado ocorreu em 3 amostragens consecutivas, e pode ser consequência da menor precipitação no período, diminuindo a diluição dos efluentes despejados no Rio Itiberê. Apesar destes valores elevados, de modo geral a área Contaminada apresentou níveis de esteróis fecais considerados moderados, não ultrapassando $2 \mu\text{g g}^{-1}$, quando comparados a outros estuários brasileiros com margens densamente povoadas, como a Baía de Guanabara, onde foram encontrados máximos de $40 \mu\text{g g}^{-1}$ (CARREIRA *et al.*, 2004), Baía de Santos, com máximos de $8,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (MARTINS *et al.*, 2008), e Lagoa dos Patos, $1,42 \mu\text{g g}^{-1}$ (MARTINS *et al.*, 2007).

O coprostanol é um esterol originado da transformação do colesterol pela ação bacteriana nos intestinos de mamíferos superiores. Em áreas costeiras, a presença de coprostanol é fortemente associada a fontes de esgoto (VENKATESAN & SANTIAGO, 1989). Valores acima de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ são indicativos de contaminação (GONZÁLEZ-OREJA & SAIZ-SALINAS, 1998). É importante considerar as diferenças amostrais entre fauna e esteróis fecais. As análises de esteróis foram realizadas a partir de uma única amostra por Baixio em cada Quinzena, o que pode causar uma “confusão” espacial pela ausência de replicação adequada (UNDERWOOD, 1997).

Na área Não-Contaminada, o Baixio 2 apresentou maiores valores para os níveis de coprostanol, fósforo, carbono, matéria orgânica e sedimentos finos. Entre as espécies mais representativas, *H. australis* foi mais abundante no Baixio 1 e *Sigambra* sp. no Baixio 2. Apesar de não haver indicativos de contaminação do Baixio 2, este apresenta sinais de maior *input* orgânico em relação ao Baixio 1. Estas características podem favorecer a heterogeneidade observada dentro da área.

O aumento do número de táxons no Inverno não foi relacionado a variações nos teores dos nutrientes analisados. Entre os fatores responsáveis pelas diferenças entre Períodos, podem-se considerar as altas temperaturas durante os períodos de dessecação a que os baixios ficam expostos e a maior precipitação durante os meses de verão. Estes fatores podem causar maior mortalidade de organismos e suprimir as espécies menos adaptadas às condições extremas (DAUER, 1984). A maior incidência de tempestades durante o Verão pode gerar desestabilização do substrato, causando ressuspensão e transporte passivo das populações superficiais (GRANT *et al.*, 1997; BOUMA *et al.*, 2001; PILDITCH *et al.*, 2008).

A variabilidade temporal de pequena escala foi uma das mais importantes devido à menor abundância e número de espécies na Quinzena 3 para os dois períodos. É importante considerar que a frequência de amostragem e a quantidade de sedimento retirado (aproximadamente 4% da área do quadrat) não seriam suficientes para causar impactos significativos, uma vez que a resiliência da fauna de baixios a impactos de pequena escala é comprovadamente alta (FARACO & LANA, 2003; BOLAM *et al.*, 2004; NEGRELLO FILHO *et al.*, 2006).

Os ciclos reprodutivos, modos de vida, e diferenças comportamentais representam um papel importante sobre as respostas das espécies às heterogeneidades do ambiente nas diferentes escalas espaço-temporais (THRUSH *et al.*, 1997). Considerando o pequeno número de réplicas temporais tomadas durante este estudo, apenas três amostragens, não foi possível identificar os fatores que conduziram a variabilidade entre Quinzenas. No entanto, esta variabilidade pode estar relacionada a processos como migração, predação ou mortalidade pós-reprodutiva, que geram grandes variações populacionais em dias ou semanas (FISCHER, 1999; NORKKO *et al.*, 2001).

A aplicação de delineamentos hierárquicos tem evidenciado a importância da variabilidade temporal em pequena escala nos ambientes entremarés (e.g. MORRISEY *et al.* 1992b; UNDERWOOD, 1994; MURPHY *et al.*, 2009). De maneira geral a variabilidade temporal foi semelhante entre as áreas (Contaminada e Não-Contaminada), possivelmente governada por processos que operam simultaneamente entre as Condições, em escalas superiores a 10^3 m. Entretanto, o grande número de interações significativas entre Quinzenas e Baixios mostra que esta variabilidade pode sofrer alterações em consequência da heterogeneidade dentro das áreas.

Estes resultados ilustram a necessidade de compreensão da variabilidade temporal em pequena escala uma vez que a variabilidade observada altera

significativamente as características da comunidade em um curto intervalo de tempo, podendo gerar interpretações equivocadas e mascarar as fontes reais de variação que se pretende avaliar.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E Ltd., Plymouth, United Kingdom, 2008. 214 p.
- ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, p. 32–46, 2001.
- ARIMORO, O.; IKOMI, R. B.; IWEGBUE, C. M. A. Ecology and Abundance of Oligochaetes as Indicators of Organic Pollution in an Urban Stream in Southern Nigeria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, p.446-453, 2007.
- BERGSTRÖM, U.; ENGLUND, G.; BONSDORFF, E. Small-scale spatial structure of Baltic Sea Zoobenthos-infering processes from patterns. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 281, p. 123-136, 2002.
- BOLAM, S.; WHOMERSLEY, P.; SCHRATZBERGER, M. Macrofaunal recolonization on intertidal mudflats: effect of sediment organic and sand content. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 306, n. 2, p. 157-180, 2004.
- BOUMA, H.; DUIKER, J. M. C.; DEVRIES, P. P.; HERMAN, P. M. J.; WOLFF, W. J. Spatial pattern of early recruitment of *Macoma balthica* (L.) and *Cerastoderma edule* (L.) in relation to sediment dynamics on a highly dynamic intertidal sandflat. **Journal of Sea Research**, v.45, p. 79-93. 2001.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space–time variations. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 60, p. 587–598, 2004.
- CHAPMAN, M.; TOLHURST, J.; MURPHY, R.; UNDERWOOD, A. J. Complex and inconsistent patterns of variation in benthos, micro-algae and sediment over multiple spatial scales. **Marine Ecology Progress Series**, v. 398, p. 33-47, 2010.
- COMPANHIA DE AGUAS DO BRASIL: CAB Águas de Paranaguá. Relatório anual. 2010.
- CONSTABLE, A. J. Ecology of benthic macro-invertebrates in soft-sediment environments: a review of progress towards quantitative models and predictions. **Australian Journal of Ecology**, v.24, p.452–476, 1999.
- COOKSEY, C.; HYLAND, J. Sediment quality of the lower St. Johns River, Florida: an integrative assessment of benthic fauna, sediment associated stressors, and general habitat characteristics. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p.9–21, 2007.

- 448 DAUER, D. M.; CONNER, W. G. Effects of moderate sewage input on benthic
449 polychaete populations. **Estuarine and Coastal Marine Science**, v.10, p. 335-346.
450 1980.
- 451 DAUER, D. M. High resilience to disturbance of an estuarine polychaete community.
452 **Bull. Mar. Sci.** v. 34, p. 170–174, 1984.
- 453 DAUER, D. M. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic
454 community structure. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 5, p. 249-257, 1993.
- 455 DI CARLO, G. & KENWORTHY, W.J. Evaluation of aboveground and belowground
456 biomass recovery in physically disturbed seagrass beds. **Oecologia**, v. 158, p. 285-298,
457 2008.
- 458 EZGETA-BALIĆ, D.; RINALDI, A; PEHARDA, M.; PRUSINA, I.; MONTALTO, V.;
459 NICETA, N.; SARÀ, G. An energy budget for the subtidal bivalve *Modiolus barbatus*
460 (Mollusca) at different temperatures. **Marine environmental research**, v. 71, p. 79-85,
461 2011.
- 462 FARACO, L. F. D.; LANA, P. C. Response of polychaetes to oil spills in natural and
463 defaunated subtropical mangrove sediments from Paranaguá bay (SE Brazil).
464 **Hydrobiologia**, v. 496, p. 321-328, 2003.
- 465 FISCHER, A. Reproductive and developmental phenomena in annelids: a source of
466 exemplary research problems. **Hydrobiologia**, v. 402, p. 1-20, 1999.
- 467 FLETCHER, D. J.; UNDERWOOD, A. J. How to cope with negative estimates of
468 components of variance in ecological field studies. **Journal of Experimental Marine**
469 **Biology and Ecology**. V. 273, p. 89–95, 2002.
- 470 GAMITO, S. Three main stressors acting on the Ria Formosa lagoonal system
471 (Southern Portugal): Physical stress, organic matter pollution and the land–ocean
472 gradient. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 77, n. 4, p. 710-720, 2008.
- 473 GIERE, O. Ecology and Biology of Marine Oligochaeta – an Inventory Rather than
474 another Review. **Hydrobiologia**, v. 564, n. 1, p. 103-116, 2006.
- 475 GILBERT, E. R.; CAMARGO, M. G.; SANDRINI-NETO, L. rysgran: Grain size
476 analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments. 1.0.
477 <http://www.R-project.org>, 2011.
- 478 GONZÁLEZ-OREJA, J. A.; SAIZ-SALINAS, J. I. Short-term spatio-temporal changes
479 in urban pollution by means of fecal sterols analysis. **Marine Pollution Bulletin**, v.36,
480 n.11, p.868-875, 1998.
- 481 GRANT, J.; TURNER, S. J.; LEGENDRE, P.; HUME, T. M.; BELL, R. G. Patterns of
482 sediment reworking and transport over small spatial scales on an intertidal sandflat,
483 Manukau Harbour, New Zealand. **Journal of Experimental Marine Biology and**
484 **Ecology**, v. 216, n. 1-2, p. 33-50, 1997.
- 485 GRASSHOFF, K.; EHRHARDT, M.; KREMLING, K. **Methods of seawater analysis**.
486 2nd ed. Weinhein, Verlag Chemie, 1983. 419p.

487 GRIMALT, J. O.; FERNANDEZ, P.; BAYONA, J. M.; ALBAIGÉS, J. Assessment of
 488 fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters.
 489 **Environmental Science & Technology**, v.24, n.3, p.357-363, 1990.

490 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). <http://www.inmet.gov.br>,
 491 2011.

492 JENG, W. L.; HAN, B. C. Sedimentary coprostanol in Kaohsiung Harbour and the Tan-
 493 Shui Estuary, Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n. 8, p.494-499, 1994.

494 KAWAKAMI, S. K.; MONTONE, R. C. An efficient ethanol-based analytical protocol
 495 to quantify fecal steroids in marine sediments. **Journal of the Brazilian Chemical**
 496 **Society**, v.13, p.226-232, 2002.

497 LANCELOTTI D. A.; STOTZ W. B. Effects of shoreline discharge of iron mine
 498 tailings on a marine soft-bottom community in northern Chile. **Marine Pollution**
 499 **Bulletin**, v. 48, p. 303-312, 2004.

500 LERBERG, S. B.; HOLLAND, F.; SANGER, D. M. Responses of tidal creek
 501 macrobenthic communities to the effects of watershed development. **Estuaries**, v. 23, p.
 502 838-853, 2000.

503 LEVIN, S. A. The problem of pattern and scale in ecology. **Ecology**, v. 73, p. 1943-
 504 1967, 1992.

505 LINDEGARTH, M.; UNDERWOOD, A. J. A manipulative experiment to evaluate
 506 predicted changes in intertidal, macro-faunal assemblages after contamination by heavy
 507 metals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.274, p.41-64, 2002.

508 LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and phaeopigments:
 509 Spectrophotometric equations. **Limnology and Oceanography**, v.12, p.343-346, 1967.

510 MARTINS, C. C.; BRAUN, J. A. F.; SEYFFERT, B. H.; MACHADO, E. C.;
 511 FILLMANN, G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal
 512 steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system ,
 513 Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 2137-2143, 2010.

514 MARTINS, C. C.; MONTONE, R. C.; FILLMANN, G. Natural and anthropogenic
 515 sterols inputs to surface sediments of Patos Lagoon, Brazil. **Journal of the Brazilian**
 516 **Chemical Society**, 18, 106-115, 2007.

517 MARTINS, C. C., FERREIRA, J. A., TANIGUCHI, S., MAHIQUES, M. M., BÍCEGO,
 518 M. C., MONTONE, R. C. Spatial distribution of sedimentary linear alkylbenzenes and
 519 faecal steroids of Santos Bay and adjoining continental shelf, SW Atlantic, Brazil:
 520 origin and fate of sewage contamination in the shallow coastal environment. **Marine**
 521 **Pollution Bulletin**. v. 56, p. 1359-1363, 2008.

522 MORRISEY, D. J.; HOWITT, L.; UNDERWOOD, A. J.; STARK, J. S. Spatial
 523 variation in soft-sediment benthos. **Marine Ecology Progress Series**, v. 81, p. 197-204,
 524 1992a.

525 MORRISEY, D. J.; UNDERWOOD, A. J.; HOWITT, L.; STARK, J. S. Temporal
 526 variation in soft-sediment benthos. **Journal of Experimental Marine Biology and**
 527 **Ecology**, v. 164, p. 233-245, 1992b.

528 MURPHY, R. J.; TOLHURST, T. J.; CHAPMAN, M. G.; UNDERWOOD, A. J.
529 Seasonal distribution of chlorophyll on mudflats in New South Wales, Australia
530 measured by field spectrometry and PAM fluorometry. **Estuarine, Coastal and Shelf**
531 **Science**, v. 84, n. 1, p. 108-118, 2009.

532 NEGRELLO FILHO, O. A.; UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G. Recolonization
533 of infauna on a tidal flat: an experimental analysis of modes of dispersal. **Journal of**
534 **Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 328, p. 240-250, 2006.

535 NOERNBERG, M. A.; LAUTERT, L. F. C.; ARAÚJO, A. D.; MARONE, E.;
536 ANGELOTTI, R.; NETTO JR, J. P. B. Remote Sensing and GIS Integration for
537 Modeling the Paranaguá Estuarine Complex - Brazil. **Journal of Coastal Research**, v.
538 39, p. 1627-1631, 2006.

539 NORKKO, A.; CUMMINGS, V. J.; THRUSH, S. F.; HEWITT, J. E.; HUME, T. Local
540 dispersal of juvenile bivalves: implications for sandflat ecology. **Marine Ecology**
541 **Progress Series**, v. 212, p. 131-144, 2001.

542 OLLABARRIA, C.; CHAPMAN, M. G. Comparison of patterns of spatial variation of
543 microgastropods between two contrasting intertidal habitats. **Marine Ecology Progress**
544 **Series**, v.220, p.201–211, 2001.

545 PAGLIOSA, P. R. Another diet of worms: the applicability of polychaete feeding guilds
546 as a useful conceptual framework and biological variable. **Marine Ecology**, v. 26, n. 3-
547 4, p. 246-254, 2005.

548 PEARSON, T. H.; ROSENBERG, R. Macrobenthic succession in relation to organic
549 enrichment and pollution of the marine environment. **Oceanography and Marine**
550 **Biology: An Annual. Review**, v.16, p.229–311, 1978.

551 PILDITCH, C. A.; WIDDOWS, J.; KUHN, N. J.; POPE, N. D.; BRINSLEY, M. D.
552 Effects of low tide rainfall on the erodibility of intertidal cohesive sediments.
553 **Continental Shelf Research**, v. 28, n. 14, p. 1854-1865, 2008.

554 R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R
555 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>, 2011.

556 SEGUEL, C. G.; MUDGE, S. M.; SALGADO, C.; TOLEDA, M. Tracing sewage in the
557 marine environment: Altered signatures in Concepción Bay, Chile. **Water Research**,
558 v.17, p. 4166-4174, 2001.

559 STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. A practical handbook of seawater analysis.
560 **Bulletin of the Fisheries Research Board**, Canada, v. 167, 1972. 310p.

561 SWEETING, C.; BADALAMENTI, F.; D'ANNA, G.; PIPITONE, C.; POLUNIN, N.
562 Steeper biomass spectra of demersal fish communities after trawler exclusion in Sicily.
563 **ICES Journal of Marine Science**, v. 66, p. 195–202, 2009.

564 SUGUIO, K. **Introdução à Sedimentologia**. 1ª ed. São Paulo, Edgard Blücher/EDUSP,
565 1973. 317p.

- 566 TER BRAAK, C. J. F. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique
567 for multivariate direct gradient analysis. **Ecology**, v.67, p.1167-1179, 1986.
- 568 TERLIZZI, A.; ANDERSON, M.; FRASCHETTI, S.; BENEDETTI-CECCHI, L.
569 Scales of spatial variation in Mediterranean subtidal sessile assemblages at different
570 depths. **Marine Ecology Progress Series**, v. 332, p. 25-39, 2007.
- 571 Thrush, S. F.; Schneider, D. C.; Legendre, P.; Whitlatch, R. B.; Dayton, P. K.; Hewitt, J.
572 E.; Hines, A. H.; Cummings, V. J.; Lawrie, S. M.; Grant, J.; Pridmore, R. D.; Turner, S.
573 J.; McArdle, B. H. Scaling-up from experiments to complex ecological systems: Where
574 to next? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 216, n. 1, p. 243–
575 254, 1997.
- 576 THRUSH, S. F.; LAWRIE, S. M.; HEWITT, J. E.; CUMMINGS, V. J. The problem of
577 scale: uncertainties and implications for soft-bottom marine communities and the
578 assessment of human impacts. In: GRAY, J. S.; AMBROSE, W. G.; SZANIAWSKA,
579 A. (eds) **Biogeochemical cycling and sediment ecology**. Kluwer Academic Publishers,
580 Dordrecht, p.195–210. 1999.
- 581 UNDERWOOD, A.J. Spatial and temporal problems with monitoring. In: CALOW, P.,
582 PETTS, G.E. (Eds.), **Rivers Handbook**. Blackwell Scientific Publications, London, p.
583 101–123, 1994.
- 584 UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G.; CONNELL, S. D. Observations in ecology:
585 you cannot make progress on processes without understanding the patterns. **Journal of**
586 **Experimental Marine Biology and Ecology**, v.250, p.97–115, 2000.
- 587 UNDERWOOD, A. J. **Experiments in Ecology: Their Logical Design and**
588 **Interpretation Using Analysis of variance**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1997.
589 504p.
- 590 VENKATESAN, M. I.; SANTIAGO, C. A. Sterols in ocean sediments: novel tracers to
591 examine habitats of cetaceans, pinnipeds, penguins and humans. **Marine Biology**, v.
592 102, p.431-437, 1989.

ANEXOS

Anexo 1

Tabela 1: Análise de variância para nitrogênio total (NT), fósforo total (PT), carbono orgânico total (COT), matéria orgânica (MO), clorofila e porcentagem de sedimentos finos (FINOS) para as escalas de variabilidade espaciais, temporais e suas interações.

Fonte	GL	NT				PT				COT			
		MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
Pe	1	8,46	1,02	0,511	1,50	0,37	0,93	0,560	0	0,03	1,21	0,423	3,2
Qu(Pe)	4	6,00	2,21	0,158	10,50	0,14	1,40	0,318	5,4	0,22	0,78	0,571	0,0
Co	1	16,59	0,79	0,641	0,00	2,02	2,07	0,194	16,4	0,02	0,18	0,989	0,0
Ba(Co)	2	8,52	3,13	0,099	11,39	0,84	8,46	0,011	19,1	1,67	5,81	0,028	23,1
PexCo	1	15,38	0,86	0,595	0,00	0,19	0,53	0,812	0,0	0,86	16,49	0,001	20,4
PexBa(Co)	2	4,98	1,83	0,221	10,07	0,36	3,67	0,074	16,1	0,04	0,13	0,880	0,0
Qu(Pe)xCo	4	15,96	5,87	0,017	29,83	0,19	1,87	0,209	11,3	0,03	0,11	0,974	0,0
Qu(Pe)xBa(Co)	8	2,72	3,43	0,002	16,09	0,10	4,17	0,000	14,9	0,29	2,31	0,029	19,4
Res	72	0,79			20,63	0,02			16,8	0,12			33,9

Fonte	GL	MO				Redox				Finos			
		MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
Pe		0,68	0,97	0,535	0,0	0,08	0,33	0,932	0,0	91	2,87	0,106	11,3
Qu(Pe)		0,60	4,96	0,026	22,4	1,10	2,86	0,096	13,1	15	2,27	0,151	7,1
Co		0,02	0,35	0,923	0,0	14,23	12,63	0,003	32,8	10	0,08	0,999	0,0
Ba(Co)		0,34	2,82	0,118	12,4	0,61	1,57	0,265	5,9	177	27,12	0,000	26,2
PexCo		0,18	1,05	0,494	3,2	0,10	0,59	0,773	0,0	20	0,66	0,727	0,0
PexBa(Co)		0,22	1,83	0,222	11,8	0,28	0,72	0,517	0,0	19	2,92	0,111	10,1
Qu(Pe)xCo		0,06	0,51	0,733	0,0	0,55	1,43	0,309	8,9	22	3,33	0,069	13,6
Qu(Pe)xBa(Co)		0,12	1,39	0,214	12,0	0,39	2,50	0,019	14,9	7	0,62	0,755	0,0
Res		0,09			38,2	0,15			24,4	10			31,8

Anexo 2

Tabela 2: Análise de variância para abundância total, número de espécies e diversidade de Shannon-Wiener (Diversidade H') para as escalas de variabilidade espaciais, temporais e suas interações.

Fonte	GL	Abundância				Nº Espécies				Diversidade H'			
		MQ	F	P	%V	MQ	F	P	%V	MQ	F	P	%V
P	1	779	1,84	0,236	8,3	5645	14,87	0,002	30,2	28,26	99,59	0,000	28,5
Q(P)	4	443	5,88	0,017	14,0	356	20,69	0,000	13,2	0,26	1,02	0,451	0,7
C	1	2.092	1,90	0,223	13,5	226	2,09	0,191	4,7	4,23	0,56	0,789	0,0
B(C)	2	1.078	11,28	0,000	18,8	61	1,72	0,093	3,2	6,68	15,25	0,000	19,2
Po(B(C))	12	21	1,83	0,069	3,7	25	2,28	0,022	4,4	0,19	1,13	0,357	2,3
PxC	1	262	4,10	0,050	9,5	367	4,79	0,035	10,2	0,02	0,21	0,980	0,0
PxB(C)	2	22	0,38	0,997	0,0	25	1,06	0,463	1,2	0,02	0,48	0,980	0,0
PxPo(B(C))	12	12	1,00	0,443	0,9	17	1,56	0,138	4,1	0,14	0,81	0,643	0,0
Q(P)xC	4	60	0,80	0,556	0,0	55	3,20	0,076	6,3	1,29	4,98	0,026	13,3
Q(P)xB(C)	8	75	6,48	0,000	11,6	17	1,60	0,151	3,6	0,26	1,53	0,172	5,6
Q(P)xPo(B(C))	48	12	1,61	0,013	6,1	11	1,25	0,148	4,2	0,17	1,25	0,149	6,8
Res	192	7			13,6	9			14,6	0,14			23,7

Anexo 3

Tabela 3: Análise de variância das espécies mais representativas para as escalas de variabilidade espaciais, temporais e suas interações.

Fonte	GL	Tubificinae sp1				<i>L. culveri</i>				<i>H. australis</i>			
		MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
P	1	90	0,5	0,835	0,0	116	1,41	0,347	4,5	1,8	0,14	0,996	0,0
Q(P)	4	302	4,81	0,028	14,8	26	5,04	0,025	6,0	44,0	10,29	0,003	18,5
C	1	2239	3,27	0,082	22,2	899	2,15	0,182	16,6	51,1	6,47	0,017	11,6
B(C)	2	597	8,82	0,000	18,2	409	45,72	0,000	21,4	3,0	0,54	0,961	0,0
Po(B(C))	12	6	0,73	0,714	0,0	4	1,67	0,103	2,7	4,3	2,72	0,007	7,9
PxC	1	32	0,83	0,614	0,0	114	1,69	0,270	7,4	45,6	7,62	0,011	15,8
PxB(C)	2	7	0,22	1,000	0,0	60	5,5	0,000	10,7	1,0	0,43	0,991	0,0
PxPo(B(C))	12	4	0,54	0,877	0,0	6	2,66	0,008	5,9	1,7	1,08	0,394	2,5
Q(P)xC	4	107	1,7	0,242	9,0	11	2,16	0,164	4,5	5,5	1,29	0,350	4,7
Q(P)xB(C)	8	63	7,85	0,000	14,2	5	2,23	0,041	4,4	4,3	2,69	0,016	9,6
Q(P)xPo(B(C))	48	8	1,54	0,022	6,4	2	1,22	0,178	3,4	1,6	1,67	0,008	9,4
Res	192	5			15,2	2			12,5	1,0			19,9

Fonte	GL	Tubificinae sp2				<i>Sigambra</i> sp				<i>Capitella</i> sp			
		MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V	MQ	F	P	% V
P	1	380	1,72	0,263	10,9	35,5	3,8	0,059	15,3	7,3	5,7	0,023	6,8
Q(P)	4	30	0,86	0,529	0,0	7,0	27,8	0,000	13,4	3,2	0,3	0,883	0,0
C	1	252	1,16	0,446	5,2	10,3	1,3	0,402	4,4	147,8	2,7	0,123	17,2
B(C)	2	214	5,68	0,000	15,6	6,4	6,1	0,000	10,2	56,9	4,0	0,001	16,0
Po(B(C))	12	3	2,23	0,025	3,0	0,9	1,6	0,134	4,8	2,9	5,1	0,000	7,4
PxC	1	250	1,16	0,446	7,3	0,3	0,1	0,997	0,0	7,5	6,1	0,02	9,7
PxB(C)	2	212	5,62	0,000	22,0	2,4	3,3	0,003	8,6	0,1	0,1	1,000	0,0
PxPo(B(C))	12	3	2,32	0,020	4,4	0,7	1,2	0,317	3,9	1,2	2,1	0,034	5,5
Q(P)xC	4	34	0,98	0,470	0,0	2,0	7,9	0,007	9,6	3,0	0,3	0,893	0,0
Q(P)xB(C)	8	35	25,78	0,000	16,6	0,3	0,4	0,887	0,0	11,6	20,5	0,000	19,8
Q(P)xPo(B(C))	48	1	0,6	0,980	0,0	0,6	2,1	0,000	11,2	0,6	0,8	0,832	0,0
Res	192	2			14,9	0,3			18,6	0,7			17,5